

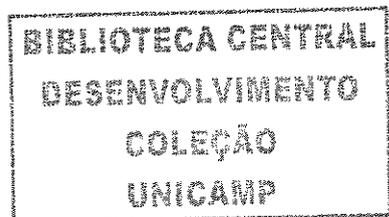
*ROSÂNGELA ROCHA MONTEIRO*

**LESÕES PROLIFERATIVAS GÁSTRICAS INDUZIDAS  
PELO REFLUXO DUODENO-GÁSTRICO EM RATOS**

*CAMPINAS*

*2004*

*i*



**ROSÂNGELA ROCHA MONTEIRO**

**LESÕES PROLIFERATIVAS GÁSTRICAS INDUZIDAS  
PELO REFLUXO DUODENO-GÁSTRICO EM RATOS**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação  
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade  
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre  
em Cirurgia*

**ORIENTADOR:** *Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo*

**CO-ORIENTADORA:** *Prof<sup>a</sup> Dra. Maria Aparecida Marchesan Rodrigues*

**CAMPINAS**

**2004**

|            |                                     |
|------------|-------------------------------------|
| UNIDADE    | /BC                                 |
| Nº CHAMADA | T/UNICAMP<br>M764L                  |
| V          | EX                                  |
| TOMBO BC/  | 66985                               |
| PROC.      | 16.23-06                            |
| C          | <input type="checkbox"/>            |
| D          | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO      | 1,00                                |
| DATA       | 18/09/06                            |
| Nº CPD     |                                     |

Bibid 374844

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS -UNICAMP  
Bibliotecária: Sandra Lúcia Pereira CRB8a./6044**

M764I

Monteiro, Rosângela Lucinda Rocha

Lesões proliferativas gástricas induzidas pelo refluxo duodeno-gástrico em ratos / Rosângela Lucinda Rocha Monteiro. Campinas, SP : [s.n.], 2004.

Orientadores : Nelson Adami Andreollo, Maria Aparecida Marchesan Rodrigues

Dissertação ( Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Adenocarcinoma . 2. Hiperplasia. 3. Carcinogênese. I. Andreollo, Nelson Adami. II. Rodrigues, Maria Aparecida Marchesan. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

---

# Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

---

---

Orientador: Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo

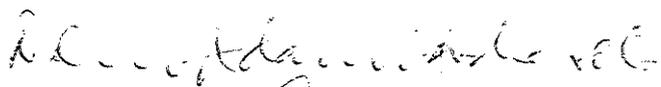
---

---

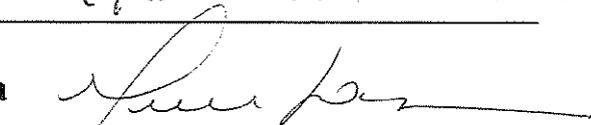
## Membros:

---

1. Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo



2. Prof. Dr. Virginio Cândido Tosta de Souza



3. Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes



---

Curso de pós-graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas.

---

Data: 15/12/2004

---

## ***DEDICATÓRIA***

*Aos meus Pais*

***Pérsio e Nylsa***

Ao meu sogro e à minha sogra

**Antônio e Maria**

*Aos meus filhos*

***Dafny, Felipe e Estéfany***

*Ao meu esposo*

***Maury***

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

---

*Ao Professor **NELSON ADAMI ANDREOLLO***

*Verdadeiro mestre e amigo, obrigada pelo papel determinante em minha formação, não só científica, mas como exemplo de ser humano, resumindo dentro de si dedicação, perseverança e humildade; obrigada por receber-me nesta instituição e assim permitir que usufrísse da convivência de tantos amigos e com todos aprender tanto; obrigada pela oportunidade ímpar de tê-lo conhecido.*

*À Professora **MARIA APARECIDA MARCHESAN RODRIGUES***

*Pelo estímulo e exemplo de dedicação científica e acadêmica, dividindo-se entre pesquisadora, esposa, mãe e mulher... . Obrigada por suas valiosas ponderações e ensinamentos.*

## *AGRADECIMENTOS*

---

Ao **Prof. Dr. Elísio Meirelles de Miranda**, pelo companheirismo em nossa tarefa de aprimoramento.

Ao **Prof. Dr. Luiz Carlos de Meneses**, amigo e incentivo constante no dia-a-dia em nosso convívio profissional, dividindo as tarefas diárias de ensino para que este trabalho fosse realizado e concretizado; obrigada pela confiança em mim depositada.

Ao **Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes**, pela gentileza em realizar a apreciação deste trabalho e contribuir com sua experiência profissional.

Ao **Prof. Dr. Mário Mantovani**, pelos ensinamentos didáticos tão valiosos, úteis em toda a minha trajetória.

À **Profa. Dra. Rachel Lewinsohn**, pelo exemplo de dedicação profissional e acolhida no Núcleo de Medicina Experimental da FCM-UNICAMP.

Ao **Prof. Dr. Virgínio Tosta de Souza**, exemplo a ser seguido de dedicação à vida universitária, guardando adjetivos tão valiosos quanto bondade e seriedade. Um grande profissional que engrandece a nossa instituição.

Ao **Adilson Abílio Piazza**, técnico de laboratório, pela sua valiosa disposição em colaborar com extremo interesse na realização da digitalização das imagens fotográficas e realizar ensinamentos tão úteis na área de informática.

Ao **Augusto Cryszenko Andreollo**, pelo auxílio valioso na área de informática.

À **Gisele C. F. Turini e Luzia Aparecida M. R. Reis**, técnicas do Laboratório de Anatomia Patológica Experimental do NMCE da UNICAMP, que realizam o preparo do material para estudo histológico sob a supervisão do Professor Konradin Metze.

Ao **José Maria Otávio**, responsável pelo setor de multimídia do **Gastrocentro** pela delicadeza e atenção em auxiliar com sua experiência em informática.

À **Maria Madalena de Abreu Rodrigues**, técnica de laboratório do NMCE da UNICAMP, pela dedicação e cuidado com os animais e disposição em ajudar sempre.

À **Marina Rachel Araújo**, bióloga do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM-UNICAMP, pela imensa colaboração no desenvolvimento da pesquisa, por suas avaliações pré e pós-operatória, por sua extrema dedicação, pelo intenso laço de amizade firmado e por tudo que me acrescentou como ser humano.

À **Márcia Regina Monteiro**, pela gentileza em realizar a revisão gramatical e bibliográfica da Tese.

À secretária **Vera Maria Barbosa**, da pós-graduação em cirurgia, pela disposição em auxiliar com boa vontade sempre que solicitada.

À **Faculdade de Ciências Médicas FCM-UNICAMP**, Instituição de organização monumental e admirável, oferecendo intenso apoio ao Desenvolvimento Científico deste País.

À **Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista**, que me acolheu na figura da Dra. Maria Aparecida Marchesan Rodrigues, para a realização da análise histológica desta pesquisa.

À **Universidade do Vale Sapucaí de Pouso Alegre**, instituição que me acolheu, e fornece o incentivo para continuar nesta trajetória acadêmica.

Aos Funcionários, Diretoria e Presidência do Hospital “**Lar Irmã Maria Augusta e Hospital Geriátrico Afonsina Reis Megale**”, pelo apoio e carinho que direta ou indiretamente contribuíram e incentivaram a execução deste trabalho.

Ao **Departamento de Estatística da FCM/-UNICAMP**, em especial **Helymar C. Machado** pela elaboração da análise estatística.

Aos Funcionários da **Universidade do Vale do Sapucaí**, que gentilmente estão sempre prontos a nos ajudar e a nos incentivar.

*Há quem diga que todas as noites são de sonhos... Mas há também quem diga nem todas... Só as de verão... Mas no fundo isso não tem muita importância... O que interessa mesmo não são as noites ... São os sonhos... Sonhos que o Homem sonha sempre... Em todos os lugares, em todas as épocas do ano... Dormindo ou acordado...*

*(William Shakespeare)*

*É essencial convencemo-nos da prioridade da ética sobre a técnica, do primado da pessoa sobre as coisas, da superioridade do espírito sobre a matéria. A causa do homem só será servida se o conhecimento estiver unido à consciência. Os homens da ciência só agradarão realmente a humanidade se conservarem o sentido da transcendência do homem sobre o mundo e de Deus sobre o homem.*

**JOÃO PAULO II**

|  | <i>Pág.</i>   |
|--|---------------|
| <b>RESUMO</b> .....  | <i>xxxvii</i> |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | <i>xli</i>    |
| <b>1 - INTRODUÇÃO</b> .....  | 45            |
| <b>1.1 - Objetivos</b> .....   | 51            |
| <b>2 - MATERIAL E MÉTODOS</b> .....  | 53            |
| <b>2.1 - Animais e Ambiente de experimentação</b> .....  | 55            |
| 2.1.1 - Acondicionamento.....  | 55            |
| 2.1.2 - Alimentação.....   | 55            |
| <b>2.2 - Grupos de animais</b> .....   | 55            |
| <b>2.3 - Procedimentos cirúrgicos</b> .....  | 56            |
| 2.3.1 - Grupo I.....   | 57            |
| 2.3.2 - Grupo II.....  | 59            |
| 2.3.3 - Grupo III.....   | 60            |
| <b>2.4 - Cuidados pós-operatórios e observação dos animais</b> .....                             | 62            |
| <b>2.5 - Sacrifício dos animais e retirada das peças</b> .....                                   | 62            |
| <b>2.6 - Abertura das peças, exame macroscópico e documentação<br/>        fotográfica</b> ..... | 62            |

|  |            |
|--|------------|
| 2.7 - Fixação e processamento do material.....   | 63         |
| 2.8 - Análise histopatológica.....   | 64         |
| 2.9 - Análise Estatística.....   | 66         |
| <b>3 - RESULTADOS.....</b>   | <b>67</b>  |
| <b>3.1 - Exame Macroscópico.....</b>   | <b>69</b>  |
| <b>3.2 - Lesões macroscópicas.....</b>   | <b>71</b>  |
| <b>3.3 - Análise Histopatológica.....</b>  | <b>76</b>  |
| <b>4 - DISCUSSÃO.....</b>  | <b>87</b>  |
| <b>4.1 - Modelos experimentais.....</b>  | <b>89</b>  |
| 4.1.1 - Indução do câncer gástrico por drogas.....   | 90         |
| 4.1.2 - Modelos experimentais de indução de lesões proliferativas<br>gástricas por refluxo duodeno-gástrico.....         | 92         |
| <b>4.2 - Análise dos modelos experimentais em carcinogênese gástrica.....</b>  | <b>106</b> |
| 4.2.1 - Gastroenteroanastomoses, sem ressecção gástrica em ratos<br>tratados com N metil N Nitro-N-Nitrosoguanidina..... | 106        |
| 4.2.2 - Gastrectomias à BILLROTH II em ratos sem carcinógeno.....  | 106        |
| 4.2.3 - Gastrectomias à BILLROTH I em ratos sem carcinógeno.....   | 108        |
| 4.2.4 - Gastrectomias à BILLROTH II versus BILLROTH I em ratos..   | 108        |
| 4.2.5 - Gastrectomias em Y de ROUX em ratos.....   | 109        |
| 4.2.6 - Gastroenteroanastomoses, sem ressecção gástrica em ratos,<br>sem carcinógeno.....                                | 110        |
| 4.2.7 - Análise global dos modelos experimentais.....  | 111        |

|   |            |
|---|------------|
| <b>4.3 - Animal de experimentação, fio de sutura e tempo de seguimento.....</b> | <b>112</b> |
| <b>4.4 - Lesões Macroscópicas.....</b>  | <b>113</b> |
| <b>4.5 - Considerações sobre o exame Histopatológico.....</b>                   | <b>113</b> |
| 4.5.1 - Hiperplasia Adenomatosa.....  | 113        |
| 4.5.2. Hiperplasia Escamosa.....  | 114        |
| 4.5.3. Adenocarcinoma Mucinoso.....   | 115        |
| <b>4.6 - Resultados de presente estudo versus Literatura.....</b>               | <b>116</b> |
| <b>4.7 - Refluxo duodeno-gástrico e carcinogênese.....</b>                      | <b>119</b> |
| <b>5 - CONCLUSÕES.....</b>  | <b>123</b> |
| <b>6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                      | <b>127</b> |
| <b>7 - APÊNDICES.....</b>   | <b>143</b> |

## *LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS*

---

|               |   |
|---------------|---|
| <b>AC</b>     | Adenocarcinoma  |
| <b>CEMIB</b>  | Centro de Bioterismo da UNICAMP                         |
| <i>et al.</i> | e outros  |
| <b>HA</b>     | Hiperplasia Adenomatosa                                 |
| <b>HE</b>     | Hiperplasia Escamosa                                    |
| <b>HCl</b>    | Ácido Clorídrico  |
| <b>MPO</b>    | Myeloperoxidase   |
| <b>NaOH</b>   | Hidróxido de sódio                                      |
| <b>NMCE</b>   | Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da UNICAMP   |
| <b>NMNG</b>   | N metil N Nitro- N-Nitrosoguanidina                     |
| <b>pH</b>     | Logaritmo do inverso da Concentração de Íons Hidrogênio |
| <b>RDG</b>    | Refluxo Duodeno-gástrico                                |
| <b>RDG-P</b>  | Refluxo Duodeno-gástrico através do piloro              |
| <b>° C</b>    | Graus centígrados                                       |

## *LISTA DE TABELAS*

---

|   | <i>Pág.</i> |
|---|-------------|
| <b>Tabela 1 -</b> Frequência de lesões macroscópicas.....   | 70          |
| <b>Tabela 2 -</b> Frequência de lesões Histológicas.....  | 77          |
| <b>Tabela 3 -</b> Comparação das proporções de ocorrência da Hiperplasia Adenomatosa.....                       | 78          |
| <b>Tabela 4 -</b> Comparação das proporções de ocorrência da Hiperplasia Adenomatosa nos grupos GII e GIII..... | 78          |
| <b>Tabela 5 -</b> Frequência de Hiperplasia Escamosa nos grupos estudados.....                                  | 81          |
| <b>Tabela 6 -</b> Comparação das proporções de ocorrência da Hiperplasia Escamosa.....                          | 82          |
| <b>Tabela 7 -</b> Frequência das lesões Histológicas do tipo Adenocarcinoma.....                                | 84          |
| <b>Tabela 8 -</b> Comparação das proporções de ocorrência de Adenocarcinoma nos grupos.....                     | 85          |
| <b>Tabela 9 -</b> Frequência de lesões histológicas.....  | 103         |
| <b>Tabela 10 -</b> Frequência de adenocarcinoma nos grupos à BII.....   | 107         |
| <b>Tabela 11 -</b> Frequência de adenocarcinoma em ratos gastrectomizados à BI e controle.....                  | 108         |
| <b>Tabela 12 -</b> Comparação da frequência em ratos gastrectomizados à BI ou à BII..                           | 109         |
| <b>Tabela 13 -</b> Comparação da frequência de adenocarcinomas em ratos submetidos à BII ou Y de ROUX.....      | 109         |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Tabela 14</b> - Comparação da frequência de Adenocarcinoma em ratos submetidos à Gastroenteroanastomose.....              | 110 |
| <b>Tabela 15</b> - Comparação entre os estudos semelhantes quanto à metodologia, tempo de seguimento e lesões na mucosa..... | 118 |
| <b>Tabela 16</b> - Frequência de lesões macroscópicas em cada animal do grupo II.....  | 151 |
| <b>Tabela 17</b> - Frequência de lesões macroscópicas em cada animal do grupo III.....                                       | 155 |
| <b>Tabela 18</b> - Frequência de lesões microscópicas nos animais do grupo II.....   | 159 |
| <b>Tabela 19</b> - Frequência de lesões microscópicas nos animais do grupo III.....  | 161 |
| <b>Tabela 20</b> - Frequência e tipo de lesão por grupo para cada local.....   | 163 |

|   | <i>Pág.</i> |
|---|-------------|
| <b>Figura 1 -</b> Grupo I.....  | 58          |
| <b>Figura 2 -</b> Grupo I.....  | 58          |
| <b>Figura 3 -</b> Grupo II.....   | 59          |
| <b>Figura 4 -</b> Grupo II.....   | 60          |
| <b>Figura 5 -</b> Grupo III.....  | 61          |
| <b>Figura 6 -</b> Grupo III.....  | 61          |
| <b>Figura 7 -</b> Grupo I. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.....    | 71          |
| <b>Figura 8 -</b> Grupo II. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.....   | 72          |
| <b>Figura 9 -</b> Grupo III. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.....  | 72          |
| <b>Figura 10 -</b> Grupo II. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.....  | 73          |
| <b>Figura 11 -</b> Grupo II. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.....  | 74          |
| <b>Figura 12 -</b> Grupo II. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.....  | 74          |
| <b>Figura 13 -</b> Grupo II. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.....  | 74          |
| <b>Figura 14 -</b> Grupo III. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório..... | 74          |
| <b>Figura 15 -</b> Grupo III. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório..... | 75          |
| <b>Figura 16 -</b> Grupo III. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório..... | 75          |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figura 17</b> - Grupo III. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório..... | 75  |
| <b>Figura 18</b> - Grupo III. Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório..... | 75  |
| <b>Figura 19</b> - Grupo II. Hiperplasia Adenomatosa na anastomose.....               | 79  |
| <b>Figura 20</b> - Grupo III. Hiperplasia Adenomatosa na mucosa pré-pilórica.....     | 80  |
| <b>Figura 21</b> - Grupo III. Hiperplasia Adenomatosa na mucosa pré-pilórica.....     | 80  |
| <b>Figura 22</b> - Grupo I. Mucosa normal na mucosa escamosa.....                     | 82  |
| <b>Figura 23</b> - Grupo III. Hiperplasia escamosa.....                               | 83  |
| <b>Figura 24</b> - Adenocarcinoma mucinoso.....                                       | 85  |
| <b>Figura 25</b> - Aspecto macroscópico do estômago normal.....                       | 86  |
| <b>Figura 26</b> - Anastomose antral - vesicular e gastroduodenal.....                | 93  |
| <b>Figura 27</b> - Tubo gástrico interposto em jejuno.....                            | 94  |
| <b>Figura 28</b> - Tubo gástrico banhado por suco pancreático.....                    | 94  |
| <b>Figura 29</b> - Tubo gástrico banhado por bile.....                                | 95  |
| <b>Figura 30</b> - Refluxo combinado.....   | 96  |
| <b>Figura 31</b> - Refluxo biliar.....  | 96  |
| <b>Figura 32</b> - Refluxo pancreático-duodenal.....                                  | 97  |
| <b>Figura 33</b> - Refluxo através do piloro.....                                     | 100 |
| <b>Figura 34</b> - Refluxo através da anastomose.....                                 | 101 |

## *LISTA DE GRÁFICOS*

---

|  | <i>Pág.</i> |
|--|-------------|
| <b>Gráfico 1</b> - Frequência lesões macroscópicas nos grupos.....             | 70          |
| <b>Gráfico 2</b> - Frequência de Hiperplasia Adenomatosa e Adenocarcinoma..... | 77          |
| <b>Gráfico 3</b> - Frequência de Hiperplasia Escamosa.....                     | 81          |
| <b>Gráfico 4</b> - Frequência de Adenocarcinoma.....                           | 84          |

***RESUMO***

A participação do refluxo duodeno-gástrico no desenvolvimento de lesões proliferativas e no processo de carcinogênese gástrica vem sendo pesquisada há décadas. Considerando-se as divergências dos resultados obtidos na literatura e o número limitado de estudos, propusemo-nos a avaliar o desenvolvimento destas lesões e suas características, através de modelos específicos de refluxo duodeno-gástrico na mucosa gástrica de ratos machos WISTAR. Assim, foram constituídos três grupos experimentais. Grupo I controle, n= 25 em que os animais foram submetidos à gastrotomia na parede posterior do estômago glandular; Grupo II, n=25, denominado refluxo duodeno-gástrico (RDG), em que foi realizado gastrojejunoanastomose na parede posterior do estômago glandular e Grupo III n=25, denominado refluxo duodeno-gástrico através do piloro, (RDG-P), em que foi realizado procedimento semelhante ao grupo II, porém com secção e fechamento da alça aferente. Todos os animais foram sacrificados na 36<sup>a</sup> semana de seguimento pós-operatório. Analisaram-se as lesões proliferativas do ponto de vista macroscópico e histológico nas regiões de antro, da anastomose gastrojejunal e no estômago escamoso. O grupo I não apresentou lesões proliferativas macroscópicas ou histológicas. A incidência de lesões macroscópicas na região do antro nos grupos II e III foi 0% e 20% respectivamente. Na região da anastomose, para a mesma variável, obteve-se respectivamente 36% e 88% nos grupos II e III. As lesões macroscópicas no estômago escamoso foram diagnosticadas em 12% no grupo II e 28% no grupo III.

Na análise histológica foram diagnosticados a **Hiperplasia Adenomatosa (HA)**, a **Hiperplasia Escamosa (HE)** e o **Adenocarcinoma (AC)**. A incidência da HA na região do antro (mucosa pré-pilórica) nos grupos II e III foi respectivamente 0% e 40%, e ao nível da anastomose respectivamente 40% e 72%.

No estômago escamoso, a incidência de **Hiperplasia Escamosa** nos grupos II e III, foi respectivamente 12% e 20%, não havendo diferença estatisticamente significativa para esta lesão. O adenocarcinoma foi diagnosticado em três animais do grupo III (12%).

Concluimos que o refluxo duodeno-gástrico, através da mucosa e através do piloro no período de observação de 36 semanas, propiciou o desenvolvimento de lesões proliferativas, predominantemente benignas, na mucosa gástrica de ratos WISTAR.

*ABSTRACT*

The participation of the duodenogastric reflux in the development of mucosal proliferation and in the process of gastric carcinogenesis it comes being researched during decades. Considering the divergences of the results obtained in the literature and the limited number of studies, we intended to evaluate the mucosal proliferation and its characteristics, thought specific models of duodenogastric reflux, in stomach of WISTAR rats. Healthy and male three months old rats were divided into 3 groups: group I – control (n = 25 animals), submitted to the gastrotomy in the posterior wall of the glandular stomach; group II – (n = 25 animals) submitted to duodenogastric reflux through the gastrojejunoanastomosis in the posterior wall of the glandular stomach and group III – (n = 25 animals) submitted to duodenogastric reflux through the pylorus after the same procedure of the group II, closing the afferent loop. The animals were observed during 36 weeks. Were analysed the mucosal damage, respectively, macroscopic and microscopic finding of the antrum, the gastrojejunostomy and the squamous area. The group I were not observed mucosa damage. The macroscopic lesions of the antrum in the groups II and III were 0% and 20%, respectively. The macroscopic lesions of the gastrojejunostomy in the groups II and III were 36% and 88%, respectively, in the squamous area were 12% and 28%, respectively. Microscopically, were diagnosed adenomatous hyperplasia (AH), squamous hyperplasia (SH) and adenocarcinoma (AC). The occurrence of AH at the antrum in the groups II and III were 0% and 40%, respectively, and in the gastrojejunostomy were 40% and 72%, respectively. The occurrence of SH at the squamous area in the groups II and III were 12% and 20%, respectively, without statistics differences between the groups. The AC were found in three animals of groups III (12%).

The final conclusions showed that the duodenogastric reflux studied in the both groups (II / III), presented mainly benign lesions in the gastric mucosal of the rats.

# *1 - INTRODUÇÃO*

BIBLIOTECA CENTRAL  
DESENVOLVIMENTO  
COLEÇÃO  
JAN 1981

A participação do refluxo duodeno-gástrico no desenvolvimento de lesões proliferativas benignas e malignas no estômago, vem sendo amplamente estudada e gerando um grande número de pesquisas. Nas décadas de 60 e 70 estas pesquisas intensificaram-se para elucidar se pacientes submetidos a técnicas cirúrgicas que promovam o refluxo duodeno-gástrico (gastrectomias parciais por doenças benignas) teriam um risco maior do que a população não gastrectomizada para o desenvolvimento de câncer no coto gástrico remanescente. A maioria destes trabalhos mostrou resultados contraditórios e não permitiram conclusões definitivas sobre o tema (BOECKEL e LILL, 1963; HILBE *et al.* 1968; MORGENSTERN *et al.* 1973; DOMELLOF e JANUNGER, 1977; EBERLLEIN *et al.* 1978; KLARFELD e RESNICK, 1979; SAVAGE e JONES, 1979). Somente a partir da década de 80, com a realização de pesquisas metodologicamente bem elaboradas e com casuísticas adequadas, é que foi estabelecido uma tendência em considerar os pacientes gastrectomizados, particularmente através de reconstruções à BILLROTH II, mais susceptíveis ao desenvolvimento de câncer no estômago remanescente após um período pós-operatório superior a 20 anos (CAYAGILL *et al.* 1986; VISTE *et al.* 1986; LUNDEGARDH *et al.* 1988; OFFERHAUS *et al.* 1983; TOFTGAARD, 1989; TERSMETTE *et al.* 1991).

A mucosa gástrica do homem é particularmente susceptível ao desenvolvimento neoplásico quando as secreções de órgãos como o fígado (secreção biliar), as do pâncreas (secreção pancreática) e as das glândulas do epitélio de revestimento do duodeno (secreção duodenal) são desviadas de seu curso natural e refluem em direção ao estômago. MIWA *et al.* (1992b).

O desenvolvimento neoplásico pode ser caracterizado por quatro etapas, denominadas, **iniciação**, **promoção**, **progressão** e **manifestação**. As duas primeiras ocorrem durante o intervalo entre a exposição e o aparecimento de lesões consideradas pré neoplásicas. A iniciação constitui-se em etapa de interação do fator agressor com o DNA da célula alvo. PITOT (1982, 1989).

A etapa de promoção é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões tumorais benignas ou de focos de células com fenótipo alterado. Os agentes promotores não reagem diretamente com o material genético da célula, apenas estimulam o processo da proliferação celular, sendo um processo caracterizado pela reversibilidade. PITOT (1989).

A etapa de progressão é caracterizada pelas alterações estruturais do genoma e é diretamente relacionada ao crescimento tumoral, invasibilidade e capacidade metastática. Esta etapa confere ao órgão atingido as características para a manifestação clínica do tumor. PITOT (1982).

O estudo experimental de indução de carcinogênese gástrica pode ser realizado através de algumas técnicas, dentre elas destacam-se: a utilização de drogas agindo sobre a mucosa, o desvio do trânsito do conteúdo luminal do estômago e duodeno com ou sem ressecções gástricas, a realização da desnervação total ou parcial do estômago e através de técnicas que promovam o refluxo duodeno-gástrico (MASON, 1986; MIWA *et al.* 1992 a; TAYLOR *et al.* 1991).

Modelos experimentais empregando o rato permitem a utilização mais fácil de um grande número de animais, e há ainda a semelhança da ultraestrutura da mucosa gástrica com a do homem, tornando-a ideal para análise histológica e molecular SCHIMITZ *et al.* (1990).

A indução do câncer gástrico por drogas têm sido utilizada há várias décadas. O potencial carcinogênico dos compostos nitrosos foi comprovado, experimentalmente, no final da década de 60, quando pesquisadores japoneses observaram lesões malignas no estômago glandular de ratos tratados com carcinógeno N- metil- N'- nitro- N- nitrosoguanidina (MNNG) administrado na água de beber (SUGIMURA e FUJIMURA, 1967; SAITO *et al.*, 1970). Posteriormente, vários autores realizaram pesquisas administrando MNNG a ratos gastrectomizados (DAHM e WERNER, 1973; RUMPF *et al.* 1978; SCHLAKE e NOMURA, 1979; KONDO *et al.* 1984; NISHIDOI *et al.* 1984; SALMON *et al.* 1985; HOUGHTON *et al.* 1987). Esses autores concluíram que nos animais gastrectomizados através de técnicas operatórias que propiciavam o refluxo duodeno-gástrico e tratados com o MNNG, ocorria potencialização dos efeitos do carcinógeno, com o aparecimento mais precoce e em maior número de tumores, quando comparados aos animais que receberam apenas o carcinógeno. A metilação do DNA seria o fator responsável pelos mecanismos que levariam ao aparecimento do carcinoma (LAWLEY, 1968; Mc CALLA, 1968).

Nas décadas de 80 e 90, alguns trabalhos em ratos gastrectomizados demonstraram que a obtenção de câncer gástrico experimental era possível sem a administração de carcinógenos, bastando a indução do refluxo das secreções duodenais (LANGHANS *et al.* 1981; THEURING *et al.* 1985; MASON, 1986; SZENTLÉLEKI *et al.* 1990; MIWA *et al.* 1993; KAMINISH *et al.* 1995). A incidência de lesões neoplásicas malignas nestes modelos era muito heterogênea, variando de 0 a 71,4% na gastrectomia à BILLROTH II e além disso, ultrapassava ou igualava-se a obtida nos modelos que utilizaram carcinógenos químicos.

Dentre as teorias formuladas para explicar essa maior susceptibilidade para o desenvolvimento de neoplasias malignas no coto gástrico, destacam-se: formação intragástrica de compostos nitrosos a partir da conversão do nitrato em nitrito mediada por enzimas produzidas por bactérias que passariam a colonizar o estômago remanescente hipoclorídrico; a ação detergente dos sais biliares sobre a mucosa gástrica que facilitaria o contato da porção proliferativa do epitélio com carcinógenos e, finalmente, os efeitos promotores das secreções do conteúdo duodenal (HAWKSWORTH e HILL, 1971; CORREA *et al.* 1975; WILLIAMSON e RATNEY, 1984; HOUGHTON *et al.* 1987; FAZI *et al.* 1991; MIWA *et al.* 1994; MIRVISH, 1997).

A secreção biliopancreática tem sido mencionada na literatura como agente que atua na fase de promoção da carcinogênese do coto gástrico (HOUGHTON, *et al.* 1987; IMAI, *et al.* 1993; KOBAYASI, *et al.* 1993; KOBAYASI, *et al.* 1994 b; SZENTLÉLEKI, *et al.* 1990), fato este comprovado experimentalmente (KATSUYAMA e SPICER, 1978). Por outro lado, outros trabalhos experimentais têm demonstrado que a secreção biliopancreática é um agente iniciador e promotor na carcinogênese do coto gástrico LANGHANS, *et al.* (1984). É difícil acreditar na existência de substâncias secretadas pelo organismo que sejam iniciadoras do desenvolvimento neoplásico; desta forma, as pesquisas sobre o refluxo duodeno-gástrico e carcinogênese foram intensificadas nesta última década e também em nosso meio (ANDREOLLO, 1994; KOBAYASI, 1990; KOBAYASI, *et al.* 1991; KOBAYASI, *et al.* 1993; KOBAYASI, *et al.* 1994b).

Na década atual, os pesquisadores passaram a dirigir seus esforços para a investigação da relação entre o refluxo duodeno-gástrico e a carcinogênese gástrica nos indivíduos que apresentam o chamado refluxo duodeno-gástrico primário (RDGP), que ocorre através do piloro em condições de jejum e pós-prandiais. Esse refluxo, quando excessivo, pode estar ligado à etiopatogenia de algumas doenças tais como: gastrite crônica, úlcera gástrica, esofagite, esôfago de Barrett (FISHER *et al.* 1973; REES *et al.* 1979; WARSHAW, 1979; GIACOSA *et al.* 1981;

KALIMA, 1982; THOMAS *et al.* 1984; GOWEN, 1985; MIWA *et al.* (1995) e possivelmente, carcinomas experimentais do esôfago (ATTWOOD *et al.* 1992; MIWA *et al.* 1994).

É conhecido o fato que a maioria das neoplasias do estômago surgem em um ambiente de gastrite crônica atrófica com metaplasia intestinal. CHELI *et al.* (1981) atribuíram aos ácidos biliares e à lisolecitina uma participação efetiva na etiopatogenia da gastrite crônica. SOBALA *et al.* (1993) associaram a intensidade da atrofia glandular e da metaplasia intestinal ao refluxo das secreções duodenais. Desta forma, existe uma grande possibilidade que o refluxo duodeno-gástrico primário tenha alguma participação na etiopatogenia do câncer gástrico em estômago não operado MIWA *et al.* (1995).

O estudo de estômagos submetidos ao refluxo do conteúdo das secreções duodenais pode acelerar as pesquisas na identificação de carcinógenos gástricos ambientais, que estejam sendo responsáveis pela elevação da incidência do câncer gástrico no Brasil. Os modelos de refluxo duodeno-gástrico, por expor a mucosa gástrica à etapa de promoção de carcinogênese, podem abreviar os testes de mutagenicidade para câncer gástrico.

Considerando-se a divergência dos resultados obtidos na literatura e o número limitado de estudos a respeito do tema, propusemo-nos a realizar um estudo experimental com o objetivo de diagnosticar a natureza das lesões proliferativas que se desenvolvem na mucosa gástrica de ratos submetidos ao refluxo duodeno-gástrico. Nosso modelo apresenta como variação dos demais estudos realizados, a localização da gastrojejunoanastomose que se encontra posicionada na parede posterior do estômago glandular, próximo à grande curvatura.

## 1.1 - Objetivos

Avaliar macro e microscopicamente as lesões proliferativas que se desenvolvem na mucosa gástrica de ratos, induzidas pelo refluxo duodeno-gástrico durante 36 semanas de observação, através de:

- a) Gastrojejunoanastomose látero-lateral na parede posterior do estômago glandular (Refluxo duodeno-gástrico – RDG).
- b) Gastrojejunoanastomose látero-lateral na parede posterior do estômago glandular, com secção e fechamento da alça aferente (Refluxo duodeno-gástrico através do piloro - RDG-P).

## ***2 - MATERIAL E MÉTODOS***

## 2.1 - Animais e Ambiente de experimentação

Foram utilizados 94 ratos da raça WISTAR (*rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia), machos, com cerca de 3 meses de idade e peso variável de 180 a 280 grs., fornecidos pelo CEMIB, Centro de Bioterismo da UNICAMP. Os animais foram mantidos no Biotério do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE), sob temperatura ambiente, em ciclos diurnos de luz. Os animais utilizados foram criados no próprio CEMIB em condições especiais, de forma que, podem ser considerados saudáveis e livres de doenças .

### 2.1.1 - Acondicionamento

Os animais foram acondicionados em gaiolas de poliuretano, com 33 cm de largura, 40 cm de comprimento e 18 cm de altura, forrada com serragem (maravalha) e com tampo de grade metálica.

### 2.1.2 - Alimentação

Todos os animais foram alimentados com ração para roedores usada no biotério do CEMIB, *ad libitum*, trocada uma vez por semana, e obtiveram livre acesso à água durante o período de experimentação. A composição da ração utilizada está descrita no Apêndice- I.

## 2.2 - Grupos de animais

O cálculo do número de animais por grupo foi realizado baseado em Tamanho Amostral para Proporção (Estudo Descritivo- variável Qualitativa) elaborado pelo Departamento de Estatística- Comissão de Pesquisa FCM-UNICAMP, como descrito no Apêndice III. Os animais foram divididos em três grupos, a saber:

### 2.2.1 - Grupo I

Vinte e cinco ratos submetidos à laparotomia com manipulação das vísceras abdominais e submetidos à gastrotomia na parede posterior do estômago. Esses animais foram observados e em seguida sacrificados na 36<sup>a</sup> semana de seguimento pós-operatório. Este grupo foi denominado Grupo Controle.

### 2.2.2 - Grupo II

Trinta e dois animais foram submetidos à laparotomia, identificação do duodeno, distando 4 cm do piloro, abertura da alça intestinal e da mucosa gástrica e realização de gastrojejunoanastomose no sentido isoperistáltico da alça, e na parede posterior do estômago. Foram observados e em seguida sacrificados na 36<sup>a</sup> semana de pós-operatório. Este grupo foi denominado de Grupo do Refluxo duodeno-gástrico (RDG).

### 2.2.3 - Grupo III

Trinta e sete animais foram submetidos a procedimento cirúrgico de gastrojejunoanastomose semelhante ao grupo II, porém com secção da alça aferente, induzindo-se refluxo duodeno-gástrico através do piloro. Foram observados e em seguida sacrificados na 36<sup>a</sup> semana de pós-operatório. Este grupo foi denominado de Refluxo duodeno-gástrico através do piloro (RDG-P).

## 2.3 - Procedimentos Cirúrgicos

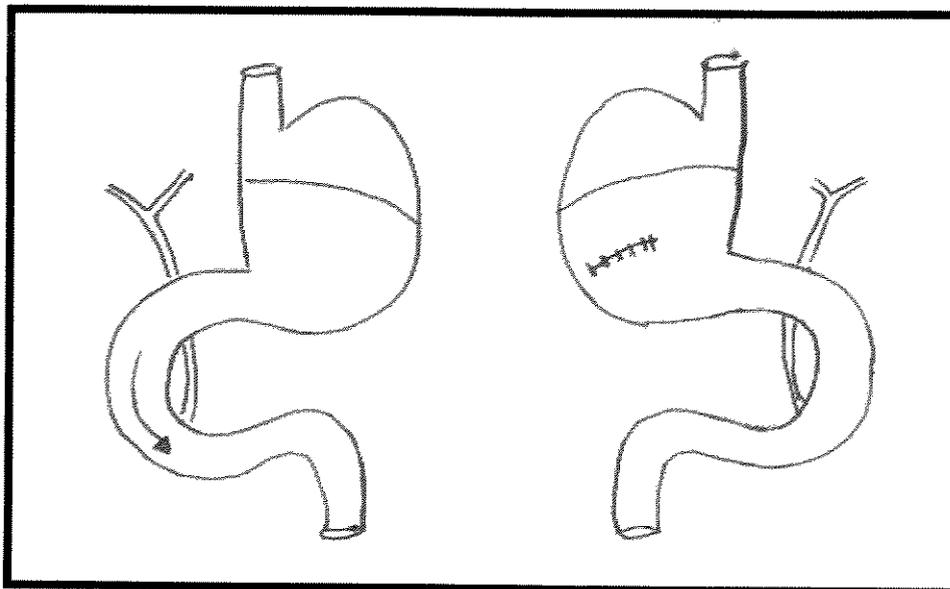
Os animais permaneceram em restrição alimentar e hídrica nas 24 horas que antecederam o procedimento cirúrgico, e obtiveram acesso à água e a solução de ringer lactato somente após 12 horas de pós-operatório.

A anestesia foi realizada através da colocação do animal em cuba de vidro contendo chumaço embebido com éter etílico, e permanência de 3 a 5 minutos no seu interior, e a seguir acondicionado em decúbito dorsal na prancha de cirurgia, ficando preso e imóvel à mesma através de seus quatro membros.

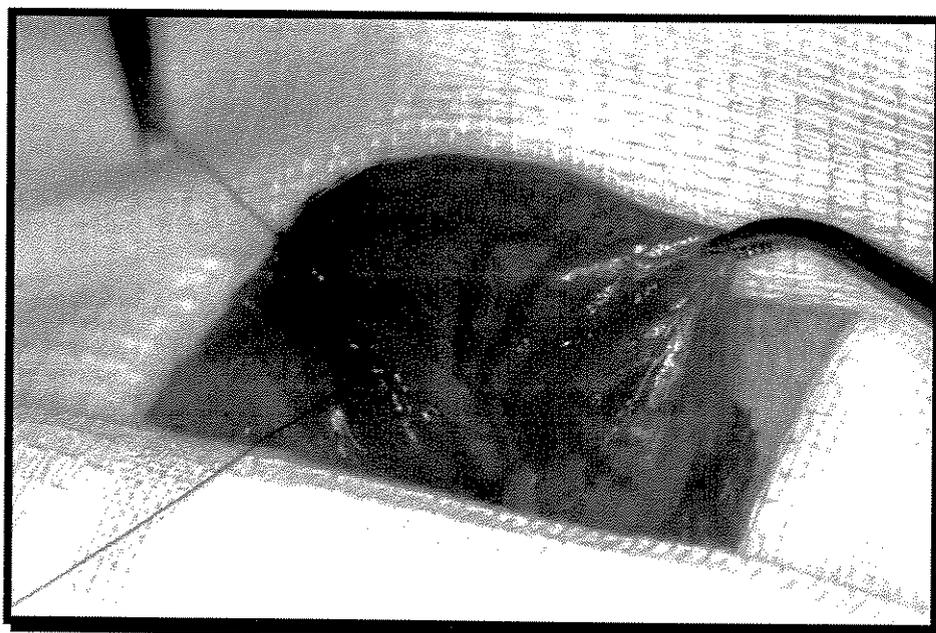
Durante todo o ato cirúrgico, o animal foi mantido anestesiado mediante manutenção intermitente de pequeno chumaço de algodão embebido com éter etílico no interior de um cone, junto às suas narinas. Foi realizado a seguir raspagem dos pêlos em toda a extensão do abdome, anti-sepsia com álcool iodado e colocação de campo fenestrado. O acesso à cavidade abdominal foi obtido através de uma laparotomia mediana e o fechamento da incisão com pontos separados de algodão 4-0 .

#### 2.3.1 - Grupo I. Controle (n= 25)

Os animais foram submetidos inicialmente à manipulação das vísceras abdominais. Identificou-se a região posterior do corpo gástrico, próximo à curvatura maior, assim como a transição do estômago glandular com o escamoso. Foi realizada abertura da parede posterior gástrica com cerca de 1 cm de extensão, no sentido transversal ao eixo maior do estômago. A incisão foi fechada através de sutura contínua com fio polipropileno 6-0. O local onde foi realizado a gastrotomia foi marcado com Tinta Nankin, para posterior identificação (*Figuras 1 e 2*).



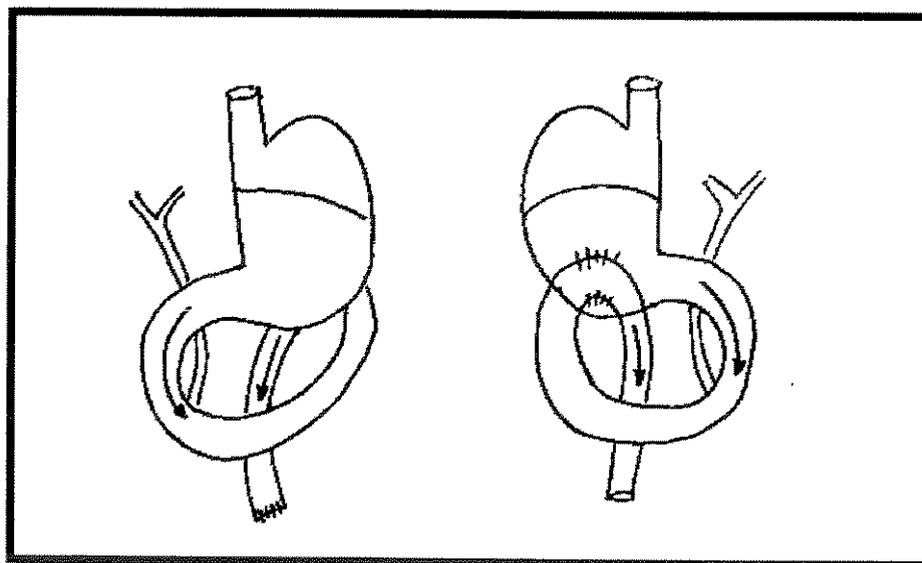
**Figura 1** - Grupo I - (Controle) Gastrotomia na parede posterior. Visão das paredes anterior e posterior respectivamente.



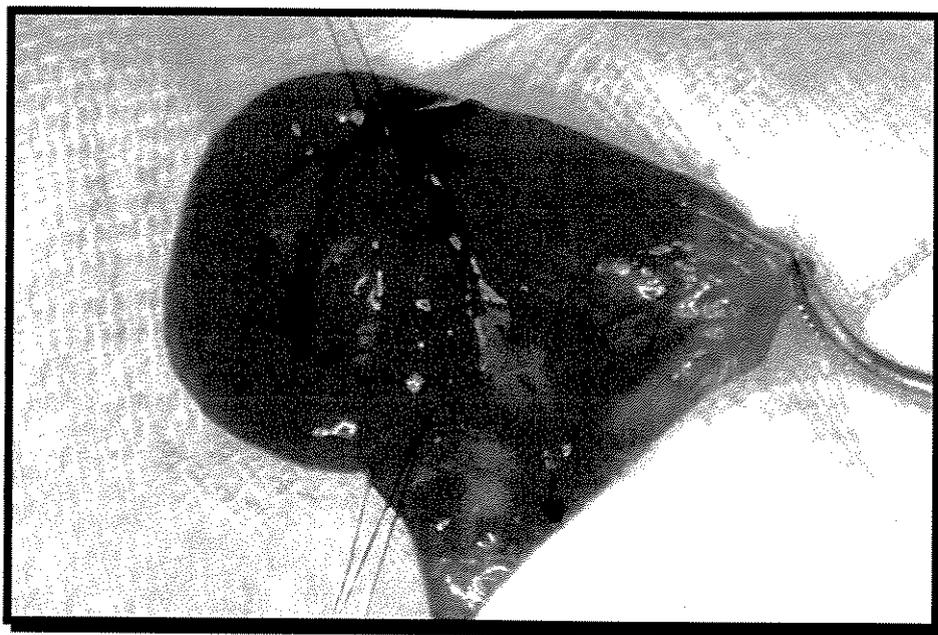
**Figura 2** - Grupo I (Controle)- Gastrotomia na parede posterior.

### 2.3.2 - Grupo II. (RDG) (n = 32)

Neste grupo foi realizada a gastrojejunoanastomose no estômago glandular. A abertura na parede posterior do estômago foi de aproximadamente 1 cm de extensão, com auxílio de bisturi e tesoura. A alça intestinal isolada era distante cerca de 4 cm do piloro e sua abertura de cerca de 1 cm de extensão, ocorreu na borda antimesentérica, com auxílio de tesoura. Realizou-se a gastrojejunoanastomose no sentido isoperistáltico da alça intestinal, e utilizou-se fio de polipropileno nº 6-0 e sutura contínua com pontos extramucosos. (*Figuras 3 e 4*).



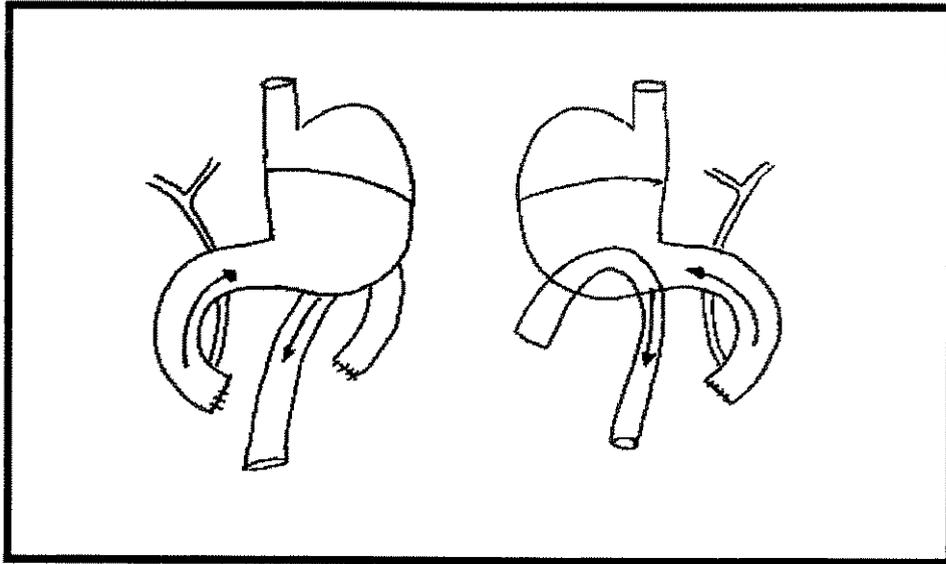
**Figura 3** - Grupo II (RDG). Gastrojejunoanastomose na parede posterior. Visão das paredes anterior e posterior respectivamente.



**Figura 4 - Grupo II (RDG).Gastrojejunostomose na parede posterior.**

### 2.3.3 - Grupo III (RDG-P) (n= 37)

Neste grupo foi realizado gastrojejunostomose no mesmo local dos animais do grupo II. A anastomose, com 1 cm de extensão, foi realizada através de sutura contínua em plano único, utilizando fio de polipropileno 6-0 monofilamentar. A seguir foi realizado secção e fechamento da alça aferente, aproximadamente 3 cm do piloro, com fio de polipropileno 6-0 monofilamentar. Deste modo, criou-se uma alça em fundo cego e todo o conteúdo duodenal obrigatoriamente, desviado para o estômago através do piloro. (*Figuras 5 e 6*).



**Figura 5** - Grupo III (RDG-P).Gastrojejunostomose na parede posterior com ligadura da alça aferente. Visão das paredes anterior e posterior respectivamente.



**Figura 6** - Grupo III (RDG-P). Gastrojejunostomose com ligadura da alça aferente na parede posterior

## **2.4 - Cuidados pós-operatórios e observação dos animais**

Nas 24 horas subseqüentes ao período de recuperação anestésica, os animais obtiveram acesso à água e solução de Ringuer lactato. A ração foi re-introduzida a partir do segundo dia de pós-operatório. Durante todo o tempo de observação, os animais foram pesados mensalmente no período da manhã entre 8 e 10 horas. Foram incluídos no estudo somente os animais que sobreviveram nas 36 semanas após o procedimento cirúrgico até a data do sacrifício.

## **2.5 - Sacrifício dos animais e retirada das peças**

Os animais foram submetidos à anestesia com éter sulfúrico até obtenção de parada cardio-respiratória, e a seguir, à laparotomia mediana. Os órgãos da cavidade abdominal foram cuidadosamente examinados para avaliação de ascite, aderências, nódulos, abscessos e fistulas.

A retirada das peças foi realizada seccionando-se o esôfago abdominal e o jejunum a 3 cm aproximadamente após o término da anastomose.

## **2.6 - Abertura das peças, exame macroscópico e documentação fotográfica**

Após terem sido cuidadosamente retiradas, as peças cirúrgicas foram abertas como se descreve a seguir:

### **2.6.1 - Grupo I – Controle**

O estômago foi aberto pela grande curvatura, lavado em solução fisiológica e examinado pela superfície da mucosa. Em seguida, as peças foram identificadas e fotografadas.

### 2.6.2 - Grupo II – RDG

O estômago foi aberto pela sua curvatura maior e pela borda mesenterial do duodeno e segmento de jejuno, lavado em solução fisiológica e examinado pela superfície da mucosa. A seguir, as peças foram identificadas e fotografadas.

### 2.6.3 - Grupo III – RDG-P

O estômago foi aberto pela curvatura maior, o duodeno e o segmento de jejuno, através da borda mesenterial. Logo após, as peças foram lavadas em solução fisiológica e submetidas ao exame macroscópico pela superfície mucosa. Em seguida, as peças foram identificadas e fotografadas.

## 2.7 - Fixação e processamento do material

As peças foram estendidas sobre placas de isopor pela face serosa e presas com alfinetes. Em seguida, permaneceram mergulhadas em solução de formalina a 10% tamponada durante 24 horas. O preparo da formalina tamponada está descrito no Apêndice II. Após este período, foram submersas em solução de álcool a 70 % até serem cortadas como se descreve a seguir:

### 2.7.1 - Grupo I – Controle

Seccionou-se no sentido transversal, ao nível da transição do estômago escamoso com o glandular e entre o estômago e o duodeno. Em seguida, obtiveram-se dois fragmentos longitudinais com dois milímetros de largura do estômago escamoso, assim como da região da gastrotomia no sentido perpendicular, identificada pela “tatuagem” com tinta Nankin, e do piloro. Foram obtidos fragmentos das faces anterior e posterior das porções: escamosa, glandular e do piloro.

### 2.7.2 - Grupo II (RDG)

Secção longitudinal de dois fragmentos de 2 milímetros de largura na junção do epitélio escamoso com o glandular, e dois fragmentos também de 2 milímetros do piloro. Na seqüência, obtiveram-se dois fragmentos da região da gastrojejunoanastomose no sentido perpendicular de dois milímetros. O estômago foi inicialmente seccionado longitudinalmente na curvatura menor e desta forma foram obtidos fragmentos das suas paredes anterior e posterior, das porções escamosa, da anastomose e do piloro.

### 2.7.3 - Grupo III (RGD-P)

Obtiveram-se dois fragmentos longitudinais de dois milímetros de largura da transição do estômago glandular com o escamoso, dois fragmentos longitudinais de dois milímetros de largura do piloro, e dois fragmentos perpendiculares à sutura da anastomose gastrojejunal. Também foram obtidos cortes das paredes anterior e posterior da porção escamosa, da anastomose e do piloro.

Os fragmentos obtidos foram identificados, colocados em frascos com solução de álcool 70% e processados pelos métodos usuais para obtenção de cortes histológicos.

## 2.8 - Análise histopatológica

O exame histológico do material foi realizado em microscópio óptico comum, em cortes corados pela hematoxilina-eosina.

O protocolo da análise histológica foi elaborado, incluindo-se os critérios:

### 2.8.1 - Hiperplasia Escamosa (HE)

Diagnosticada quando o epitélio pavimentoso estratificado apresentava-se espessado (duas ou mais vezes que o normal) e com hiperqueratose.

### 2.8.2 - Hiperplasia Adenomatosa (HA)

Caracterizada por proliferação de estruturas glandulares com crescimento endofítico ou exofítico em relação à submucosa, e com ausência de atipias celulares.

### 2.8.3 - Adenocarcinoma (AC)

Diferencia-se da lesão anterior (HA) pela presença obrigatória de atipias celulares e estruturais graves, bem como pelo crescimento invasivo.

A análise histológica das lesões proliferativas foi realizada no laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, onde utilizou-se microscópio óptico (Leica DMLB, ocular L PLAN 10x/25, objetiva- Carl Zeiss GF phanachromat = 3,2 x 0,006 ∞/ -A), cuja imagem era capturada por câmera (Köhler CTV 500, sistema NTSC com acoplador com lente 0,63 x) .

A digitalização das imagens histológicas para documentação foi realizada no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências da UNICAMP, através de computador Pentium IV acoplado a microscópio AXIOPHOT 2 com câmera de vídeo, marca ZEISS, utilizando programa KS 300 e ADOBE PHOTOSHOP.

## 2.9 - Análise Estatística

Na comparação entre os grupos II (RDG) e GIII (RDG-P), no caso de variável classificatória (ocorrência ou não do evento), calculou-se as proporções de ocorrência em cada grupo.

Nas comparações dos grupos utilizou-se para medidas independentes, o teste qui-quadrado. Em alguns casos empregou-se o Teste exato de Fisher devido à ocorrência de valores esperados menores do que cinco (SIEGEL, 1975; FLEISS, 1981). Foi utilizado em nível de significância de 5% ( $p$ -valor  $< 0.05$ ), onde  $p$  é a probabilidade de erroneamente concluir pela diferença entre os dois grupos.

A análise estatística comparativa entre o grupo GI (controle) e os demais não foi realizada. Esta opção deveu-se ao fato de não terem sido observados eventos biológicos com interesse de comparação com os demais grupos. A *tabela 20* do Apêndice VIII demonstra as frequências das lesões microscópicas encontradas nos grupos estudados.

### ***3 - RESULTADOS***

Foram operados 94 animais, dos quais 75 foram incluídos no estudo, sendo excluídos 19 (20,21%) dos grupos II (RDG) e III (RDG-P), a saber: 7 animais do grupo II e 12 animais do grupo III, por terem sido encontrados mortos nas gaiolas no primeiro 1 mês de pós-operatório. Não se identificou a causa do óbito por não ter sido realizado exame pós-mortem. Todos os animais do grupo I (Controle) permaneceram vivos até o final da pesquisa.

Quanto ao peso dos animais, durante o experimento foi observado que todos ganharam peso. Nas três primeiras semanas de pós-operatório, os animais dos grupos II (RDG) e III (RDG-P) apresentaram discreta diminuição de peso em comparação ao grupo controle. No restante do período de observação não houve diferença significativa entre os grupos.

### **3.1 - Exame Macroscópico**

Nos animais submetidos ao sacrifício, durante o exame da cavidade abdominal constatou-se a presença de aderências entre o lobo esquerdo do fígado e o local da gastrojejunoanastomose, ou da gastrotomia, bem como entre as alças jejunais. Não se constatou a presença de nódulos linfáticos proeminentes, ascite, ou qualquer evidência de comprometimento metastático de órgãos à distância ou da superfície peritoneal.

Após a remoção das peças e a sua abertura, examinou-se a superfície mucosa. Durante o exame, nos grupos II e III, constatou-se a presença de lesões vegetantes polipóides ou sésseis de tamanhos variáveis ao nível da anastomose gastrojejunal, e algumas encontradas na mucosa pré-pilórica no grupo III.

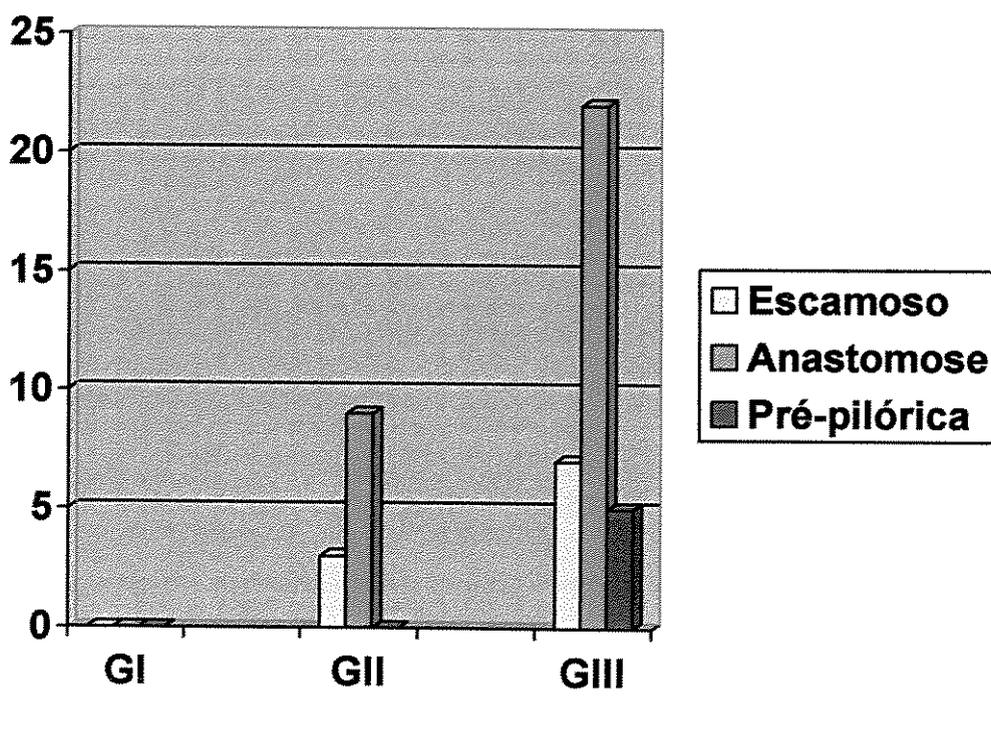
Nas peças do grupo controle não se observou lesões macroscópicas importantes, a não ser discreta proeminência da mucosa no local da gastrotomia. As lesões macroscópicas encontradas nos animais do grupo II e III encontram-se descritas nos Apêndices IV e V respectivamente.

A frequência das lesões macroscópicas nos diferentes grupos encontradas são apresentadas a seguir na *Tabela 1* e no *Gráfico 1*.

**Tabela 1** - Frequência de lesões macroscópicas (%) e localização nas peças cirúrgicas nos grupos I (Controle), II (RDG) e III (RDG-P) n= número efetivo de peças

| Grupos | n  | Estômago escamoso(%) | Anastomose(%) | Pré-pilórica(%) |
|--------|----|----------------------|---------------|-----------------|
| I      | 25 | 0                    | 0             | 0               |
| II     | 25 | 3 (12%)              | 9 (36%)       | 0               |
| III    | 25 | 7 (28%)              | 22( 88%)      | 5(20%)          |

*n° de lesões*

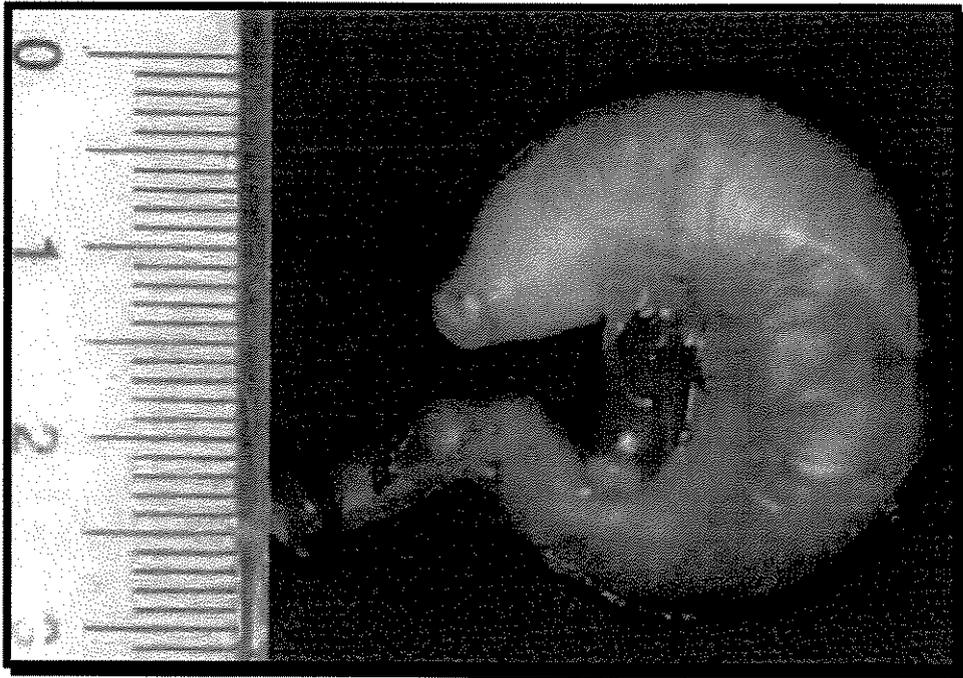


**Gráfico 1** - Frequência das lesões macroscópicas segundo a localização anatômica (região escamosa, mucosa ao nível da anastomose e mucosa pré-pilórica), nos animais conforme os grupos I, II e III.

A maior frequência de lesões macroscópicas (88%) ocorreu na anastomose gastrojejunal do grupo III, seguido pelo grupo II (36%).

### 3.2 - Lesões macroscópicas

As *figuras 7, 8 e 9* demonstram o aspecto macroscópico do estômago ao exame externo nos grupos I (Controle), GII (RDG) e GIII (RDG-P).



**Figura 7** - Grupo I. Aspecto do estômago no pós-operatório (parede anterior).



**Figura 8 - Grupo II. (RDG). Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.**



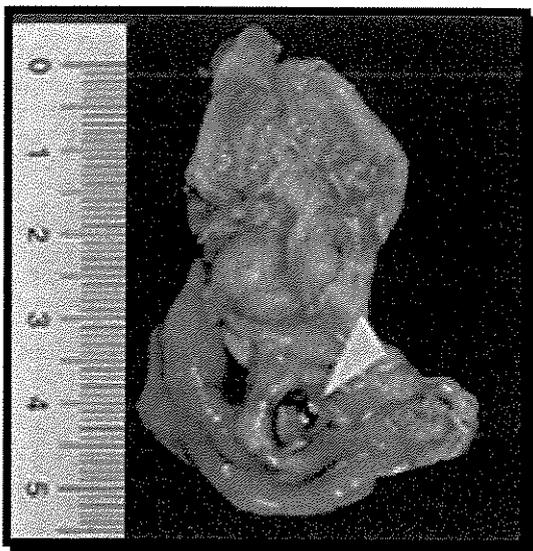
**Figura 9 - Grupo III. (RDG-P). Aspecto macroscópico do estômago no pós-operatório.**

A **Figura 10** ilustra as mucosas escamosa e glandular normais de um animal do grupo I (Controle).



**Figura 10** - Aspecto Macroscópico de estômago normal de rato.

As *figuras 11, 12, 13 e 14* demonstram o aspecto das lesões após a abertura das peças no grupo II. Estão assinaladas ulcerações e lesões polipóides na anastomose gastrojejunal.



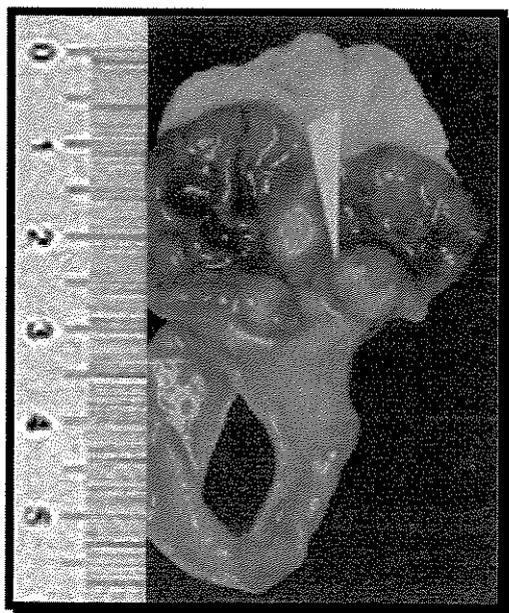
**Figura 11 - Grupo II (RDG)**



**Figura 12 - Grupo II (RDG)**



**Figura 13 - Grupo II (RDG)**



**Figura 14 - Grupo II (RDG)**

As figuras 15, 16, 17 e 18 demonstram o aspecto das lesões encontradas no grupo III, após a abertura das peças. Estão assinaladas as lesões polipóides na anastomose gastrojejunal.



**Figura 15 - Grupo III (RDG-P)**



**Figura 16 - Grupo III (RDG-P)**



**Figura 17 - Grupo III (RDG-P)**



**Figura 18 - Grupo III (RDG-P)**

### 3.3 - Análise Histopatológica.

As seguintes regiões foram analisadas durante o exame histológico:

- Mucosa ao nível da anastomose (estômago glandular)
- Mucosa ao nível da região escamosa
- Mucosa ao nível pré-pilórico

Três tipos de lesões proliferativas foram encontradas:

- **Hiperplasia Adenomatosa (HA)**
- **Hiperplasia Escamosa (HE)**
- **Adenocarcinoma Mucinoso (AC)**

As lesões histopatológicas encontradas encontram-se demonstradas nos Apêndices VII e VIII.

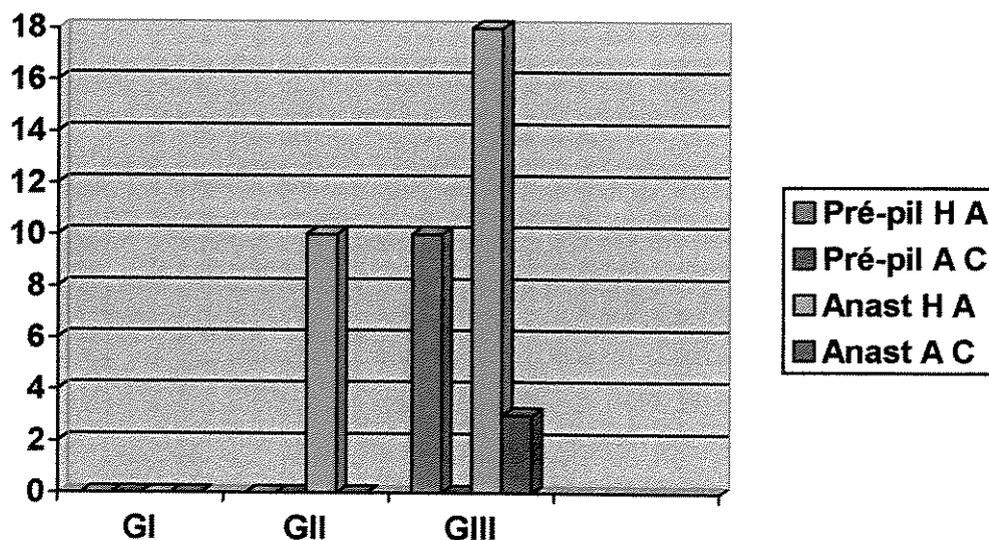
A frequência de **Hiperplasia Adenomatosa** e **Adenocarcinoma** na mucosa pré-pilórica e na anastomose nos três grupos estudados é mostrada na **Tabela 2**. O **Gráfico 2** demonstra a frequência destas lesões .

As **tabelas 3 e 4** referem-se à comparação das proporções de ocorrência da hiperplasia adenomatosa na mucosa pré-pilórica e na mucosa da anastomose nos grupos II e III.

**Tabela 2** - Frequência de lesões histológicas (%) na mucosa pré-pilórica e na anastomose nos grupos GI(controle) GII (RDG) e GIII (RDG-P) n = número efetivo de animais: HA = **H**iperplasia **A**denomatosa; AC = **A**denocarcinoma **M**ucinoso.

| Grupos | n  | Pré-pilórica (%) |    | Anastomose (%) |        |
|--------|----|------------------|----|----------------|--------|
|        |    | HA               | AC | HA             | AC     |
| I      | 25 | 0                | 0  | 0              | 0      |
| II     | 25 | 0                | 0  | 10(40%)        | 0      |
| III    | 25 | 10(40%)          | 0  | 18(72%)        | 3(12%) |

*Nº de lesões*



*Local*

**Gráfico 2** - Frequência da **H**iperplasia **A**denomatosa (H A) e **A**denocarcinoma (A C) nos grupos I (Controle), II ( RDG) e III (RDG-P),segundo localização na anastomose (Anast) ou na mucosa pré-pilórica (Pré-pil).

**Tabela 3** - Comparação das proporções de ocorrência da **Hiperplasia Adenomatosa** na mucosa pré-pilórica nos grupos Grupo II (RDG) e III (RDG-P).

n = n° de eventos observados

|              | n         | Proporção     | Total     |
|--------------|-----------|---------------|-----------|
| <b>GII</b>   | 0         | 0             | 25        |
| <b>GIII</b>  | 10        | 0,4000        | 25        |
| <b>Total</b> | <b>10</b> | <b>0,2000</b> | <b>50</b> |

Comentário:  $X^2 = 12,50$ ;  $p = 0,0004$ ..  $GII < GIII$ .

**Tabela 4** - Comparação das proporções de ocorrência da **Hiperplasia Adenomatosa** na mucosa da anastomose nos grupos II (RDG) e III (RDG-P)

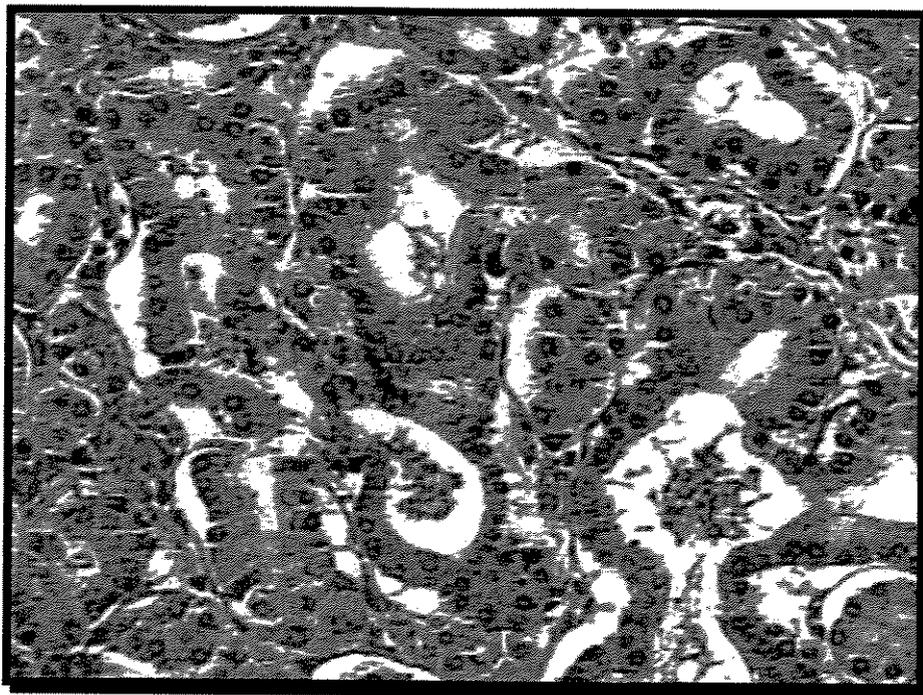
n = n ° de eventos observados.

|              | n         | Proporção     | Total     |
|--------------|-----------|---------------|-----------|
| <b>GII</b>   | 10        | 0,4000        | 25        |
| <b>GIII</b>  | 18        | 0,7200        | 25        |
| <b>Total</b> | <b>28</b> | <b>0,5600</b> | <b>50</b> |

Comentário:  $X^2 = 5,19$ ;  $p = 0,0227$ ..  $GII < GIII$

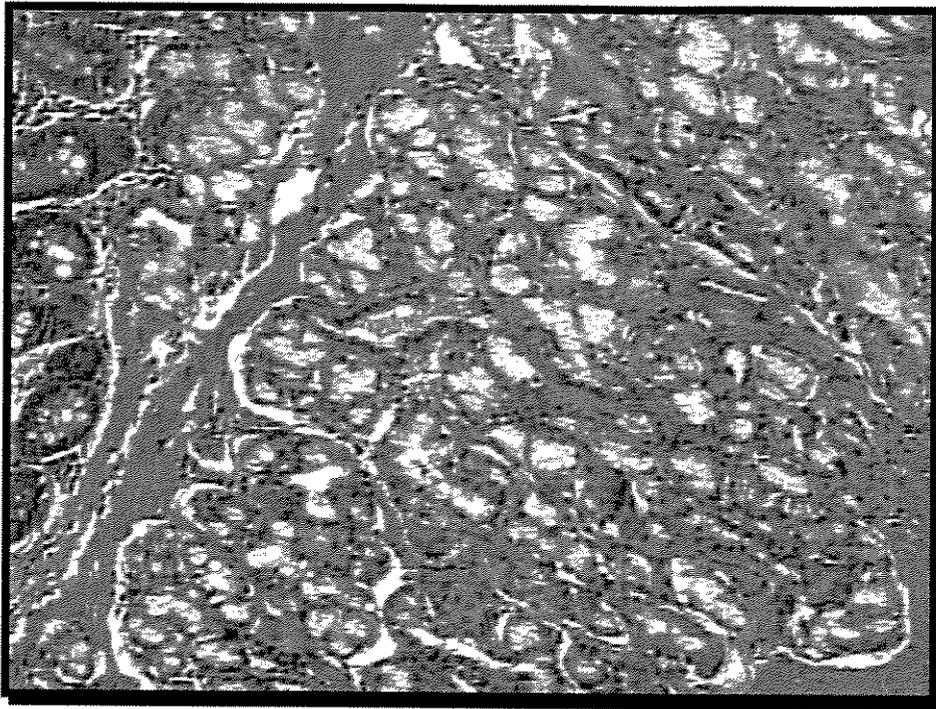
Pode-se observar que na mucosa pré-pilórica e na mucosa da anastomose houve diferença estatística entre os grupos, sendo que existe maior freqüência de lesões no grupo GIII (RDG-P)- ( $p < 0,05$ ).

A lesão histológica de **Hiperplasia Adenomatosa** na anastomose no grupo II (RDG) encontra-se demonstrada na *figura 19*, a seguir.

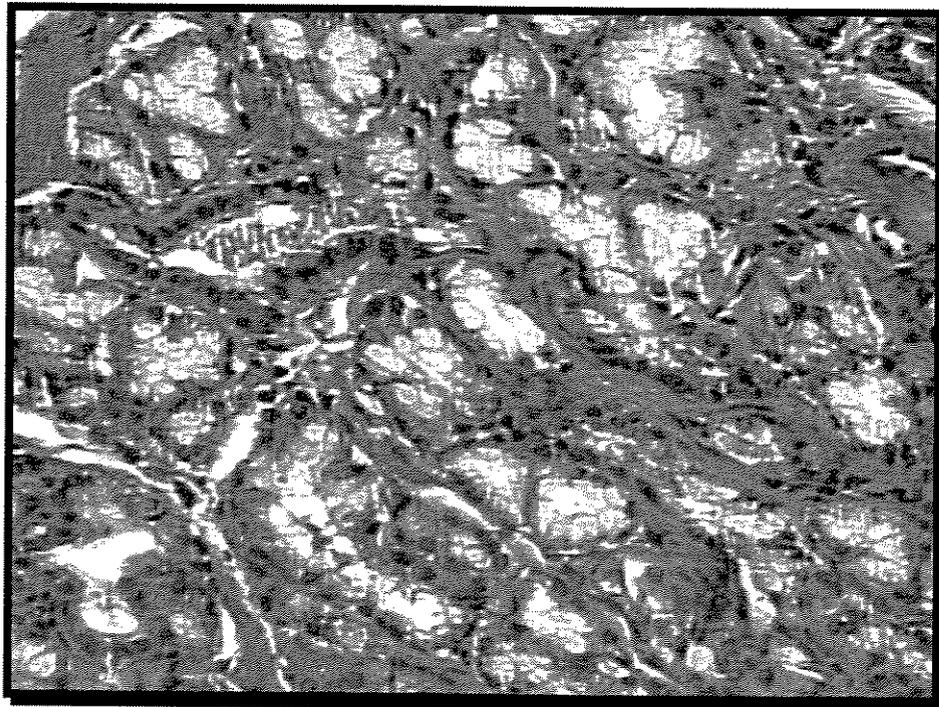


**Figura 19** - Grupo II (RDG). Hiperplasia Adenomatosa na anastomose.(HE-400x).

As *figuras 20* e *21* demonstram a **Hiperplasia Adenomatosa** na mucosa pré-pilórica no grupo III.



**Figura 20 - Grupo III (RDG-P). Hiperplasia Adenomatosa na mucosa pré-pilórica (HE-200x)**



**Figura 21 - Grupo III (RDG-P). Hiperplasia Adenomatosa na mucosa pré-pilórica (HE-400x).**

A *tabela 5*, demonstra a frequência da **Hiperplasia Escamosa** encontrada nos diferentes Grupos.

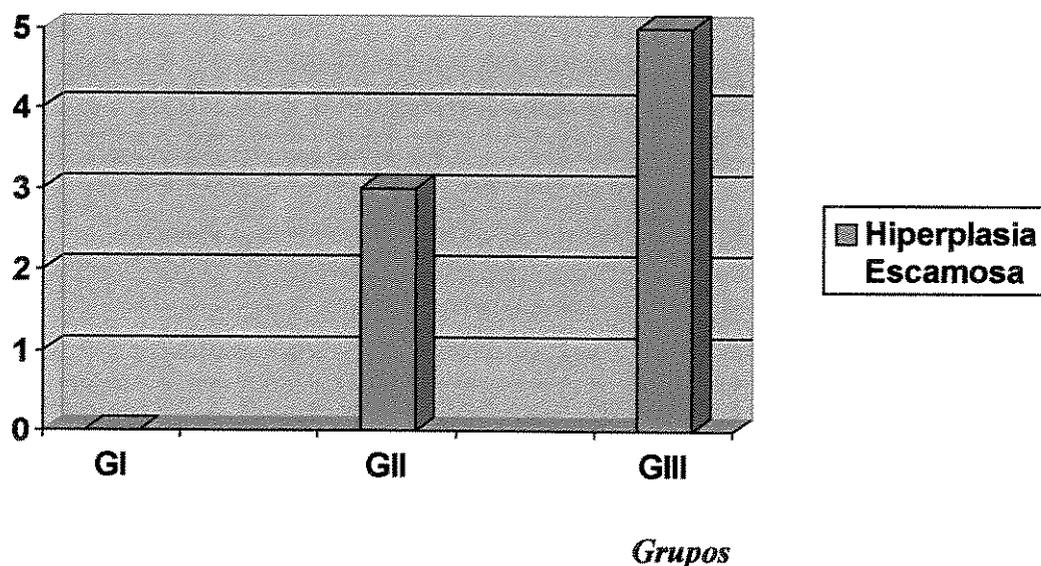
**Tabela 5** - Frequência de **Hiperplasia Escamosa** (%) nos Grupos I (Controle), GII (RDG) e GIII (RDG-P).

n= número efetivo de animais

| Grupos   | n  | Hiperplasia Escamosa |
|----------|----|----------------------|
| Controle | 25 | 0                    |
| RDG      | 25 | 3 (12%)              |
| RDG-P    | 25 | 5 (20%)              |

O *gráfico 3*, demonstra a frequência de **Hiperplasia Escamosa** nos grupos estudados.

*n° de lesões*



**Gráfico 3** - Frequência da **Hiperplasia Escamosa** nos grupos I ( Controle), II (RDG) e III (RDG-P).

**Tabela 6** - Comparação das proporções de ocorrência da **Hiperplasia Escamosa** nos grupos II (RDG) e III (RDG-P).

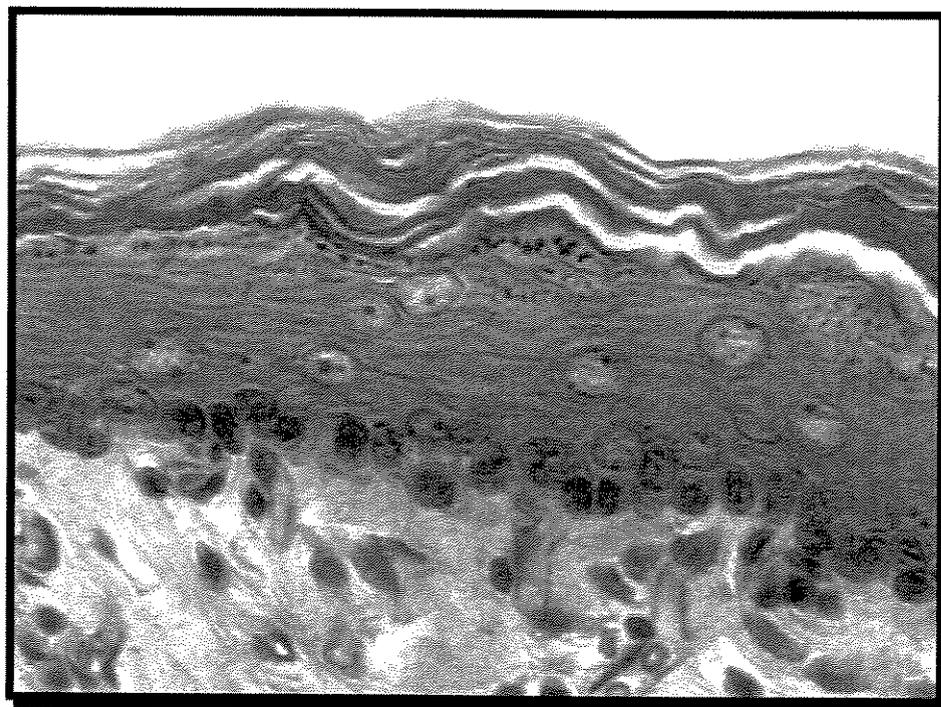
n= nº de eventos observados

|              | n        | Proporção     | Total     |
|--------------|----------|---------------|-----------|
| GII          | 3        | 0,1200        | 25        |
| GIII         | 5        | 0,2000        | 25        |
| <b>Total</b> | <b>8</b> | <b>0,1600</b> | <b>50</b> |

Comentário: Teste exato de Fisher=  $p=0,7019$  ∴ GII =GIII

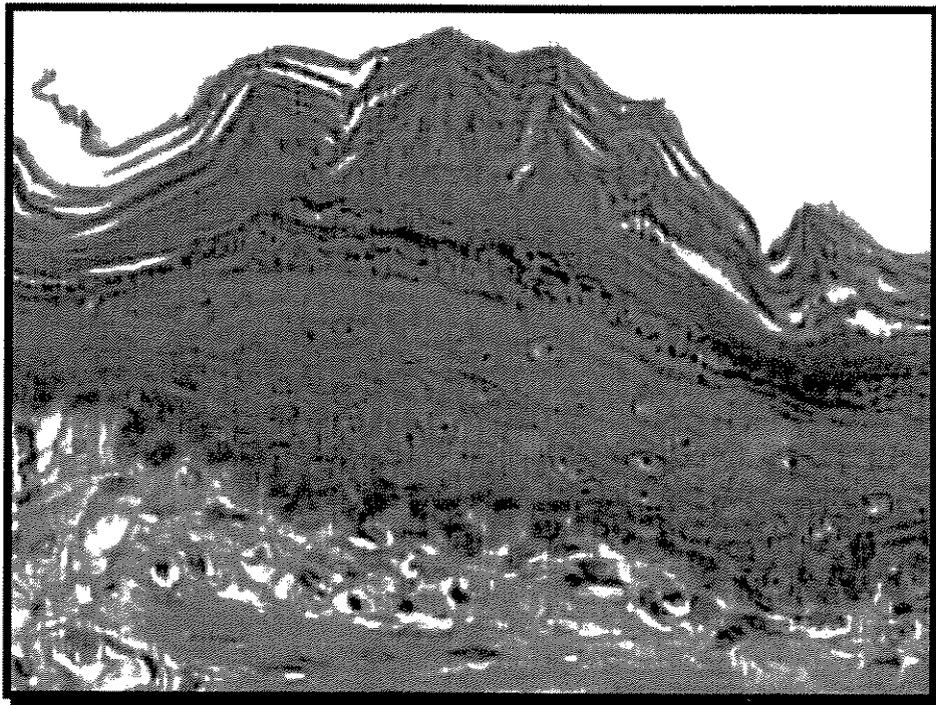
Pode-se observar que a frequência **Hiperplasia Escamosa** não diferiu entre os grupos GII e GIII ( $p<0,05$ ), utilizando-se o teste exato de Fisher (SIEGEL, S. 1975).

A *figura 22* demonstra a mucosa normal na região escamosa no grupo I (Controle).



**Figura 22** - Grupo Controle. Mucosa normal da região escamosa (HE-400x).

A *figura 23* corresponde à **Hiperplasia Escamosa** encontrada no grupo III (RDG-P).



**Figura 23** - Grupo III (RDG-P) **Hiperplasia Escamosa** (HE- 400x).

### **Adenocarcinoma**

Foram diagnosticadas 3 lesões do tipo **Adenocarcinoma Mucinoso** na anastomose gastrojejunal do grupo III durante o exame histológico. Estas lesões caracterizavam-se por células colunares atípicas, dispostas em pequenos blocos ou cordões, em meio a abundante estroma constituído por lagos de muco.

A *Tabela 7* demonstra a frequência de **Adenocarcinoma Mucinoso** encontrado na mucosa da anastomose gastrojejunal.

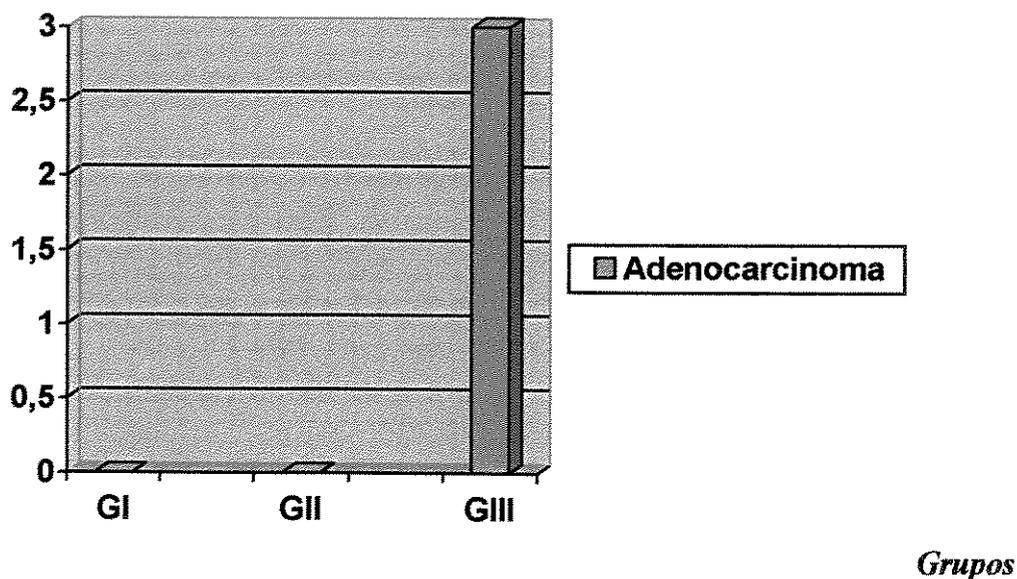
**Tabela 7** - Frequência de lesões histológicas (%) do tipo **Adenocarcinoma Mucinoso** na anastomose gastrojejunal.

n = número efetivo de animais

| Grupos   | n  | Adenocarcinoma (%) |
|----------|----|--------------------|
| Controle | 25 | 0                  |
| GII      | 25 | 0                  |
| GIII     | 25 | 3 (12%)            |

O *gráfico 4*, demonstra a frequência de **Adenocarcinoma Mucinoso** nos grupos estudados.

*n° de lesões*



**Gráfico 4** - Frequência de **Adenocarcinoma Mucinoso** nos 3 grupos estudados I (Controle), II (RDG) e III (RDG-P).

**Tabela 8** - Comparação das proporções de ocorrência de **Adenocarcinoma Mucinoso** nos grupos I (Controle), II (RDG) e III (RDG-P).

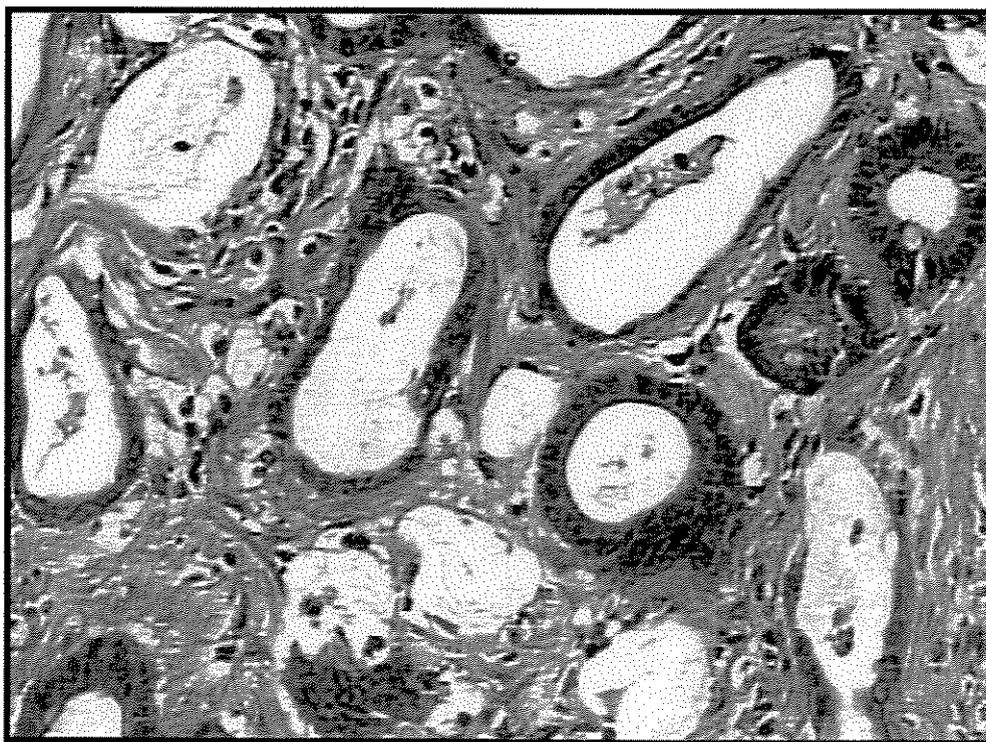
n = nº de eventos observados.

|              | n        | Proporção     | Total     |
|--------------|----------|---------------|-----------|
| GII          | 0        | 0             | 25        |
| GIII         | 3        | 0,1200        | 25        |
| <b>Total</b> | <b>3</b> | <b>0,0600</b> | <b>50</b> |

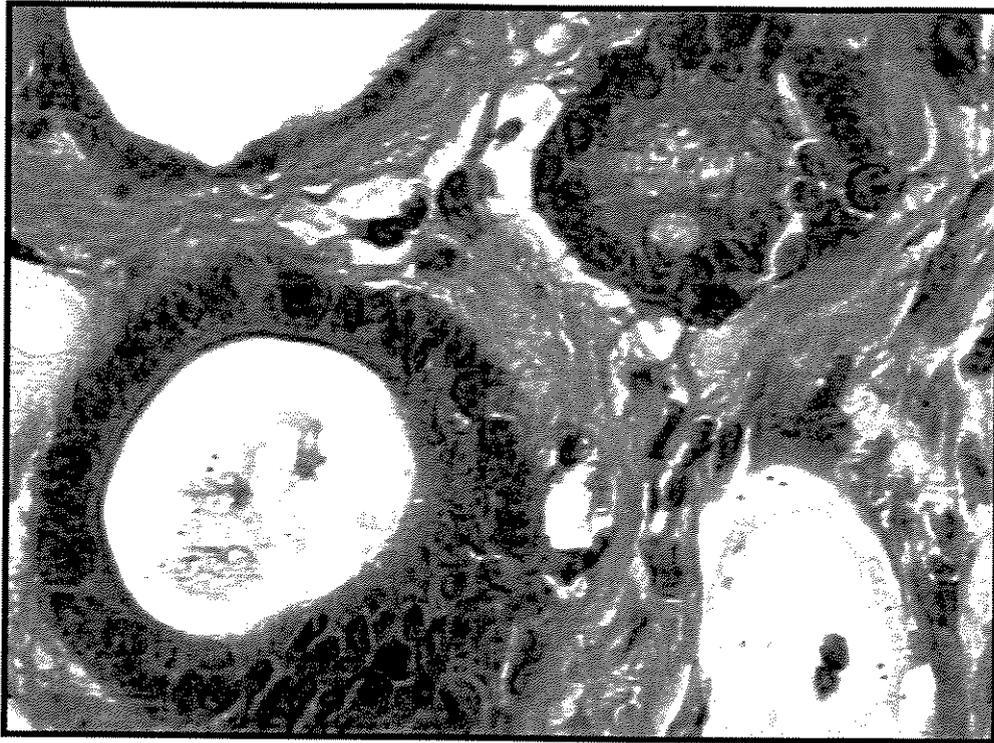
Comentário: teste exato de Fisher:  $p= 0,2347$  ∴ GII = GIII

Pode-se observar que, na mucosa da anastomose, não houve diferença estatística entre os grupos II e III quanto à ocorrência de Adenocarcinoma ( $p < 0,05$ ).

As *figuras 24* e *25* a seguir demonstram o aspecto histológico de **Adenocarcinoma Mucinoso** observado no grupo III (RDG-P) na anastomose gastrojejunal.



**Figura 24** - Grupo III (RDG-P) **Adenocarcinoma Mucinoso** na anastomose (HE-400).



**Figura 25 - Grupo III (RDG-P). Adenocarcinoma mucinoso, a anastomose (HE-1000x).**

## ***4 - DISCUSSÃO***

Nos trabalhos experimentais de carcinogênese gástrica, há uma certa dificuldade no estudo comparativo dos resultados, devido à diversidade das técnicas cirúrgicas utilizadas, alterando o grau de refluxo duodeno-gástrico e aos critérios histopatológicos empregados, além de muitos deles associarem-se ao uso de carcinógenos exógenos. No presente estudo resumimos alguns dos principais trabalhos de pesquisa nesta área, porém nos que envolvem carcinógenos exógenos daremos ênfase apenas aos que se referem a gastroenteroanastomose. Esta abordagem certamente fará injustiça a muitos trabalhos de destaque da literatura nesta área, porém, para fins comparativos tornou-se necessária.

#### **4.1 - Modelos experimentais**

O adenocarcinoma espontâneo do estômago glandular de rato é um achado raro nos animais procriados em Biotérios. Os ratos da linhagem Wistar são os mais frequentemente utilizados nos modelos que utilizam o refluxo duodeno-gástrico. A idade aconselhável de ratos a serem utilizados nestes experimentos deve variar entre 5 a 7 semanas no máximo, devido ao longo período de seguimento pós-operatório. (BULLOCK e CURTIS, 1930; GOODMAN *et al.* 1979; MAEKAWA *et al.* 1983; OHGAKI *et al.* (1983); SZENTIRMAY e SUGAR, (1973).

O estômago do rato é constituído de uma parte não glandular, com epitélio escamoso. Os 2/3 restantes constituem-se de mucosa gástrica secretora (estômago glandular) que corresponderia ao estômago humano. A mucosa secretora de ácido é conhecida como mucosa fúndica e a mucosa antral como pilórica. (SZENTIRMAY e SUGAR, 1979).

A seguir, encontram-se descritos alguns estudos experimentais referentes à carcinogênese gástrica e foram agrupados de acordo com a metodologia utilizada.

#### 4.1.1 - Indução do câncer gástrico por drogas

O tubo digestório, e particularmente o estômago se prestam bem ao estudo de drogas que provocam a carcinogênese através do contato direto.

O mecanismo pelo qual as drogas podem induzir a oncogênese gástrica têm sido estudado em modelos experimentais através de administração oral. Papilomas foram desenvolvidos no pré-estômago de ratos através da administração oral de alcatrão BONNE *et al.* (1927). Em 1929 observou-se um adenocarcinoma num grupo de 10 ratos que recebiam alcatrão, gordura, anilina e toluenodiamina VORONOFF *et al.* (1929). Em 1937, foi utilizado o benzopireno em ratos, provocando carcinoma de células escamosas, um leiomioma, um sarcoma e um adenocarcinoma RUSH, *et al.* (1940).

Carcinomas no pré-estômago surgiram em 71 ratos de 425, que recebiam por via oral emulsões de óleo de oliva ou mineral que continham metilcolantreno ou dibenzilantraceno (STEWART e LORENZ, 1949). Na época, os mesmos pesquisadores descreveram uma lesão que denominaram “quase carcinoma” e a definiram como sendo, o início desta lesão.

Até então, os cânceres apareciam predominantemente no pré-estômago, porção queratinizada do estômago do rato, até que em 1961 conseguiu-se induzir carcinomas na porção glandular utilizando-se o N - N'-2,7 -Flurenilenebisacetamina STEWART, *et al.* (1961).

Após esse período inicial, outros autores conseguiram induzir adenocarcinomas com a administração óxido de 4 - Nitroquinolina instilado através de gastrotomia, pela qual se exteriorizava um catéter de polietileno, tendo sido os primeiros a utilizar rotineiramente os compostos nitrosos. Eles conseguiram ainda, potencializar a ação dessa droga com o uso de outro carcinógeno por via percutânea, o metil-colantreno BABA, *et al.* (1962).

O composto N-Nitroso-N - Etiluretano (1-2 mg/dose em etanol aquoso), foi administrado através de via oral durante 9 meses, a ratos e camundongos causando adenocarcinomas SCHOENTAL, (1963). O mesmo autor em 1966 utilizou outro composto nitroso, o N- Metil - N - Nitroso - N - Nitroguanidina (MNNG), para provocar carcinomas

no pré estômago em ratos; a droga era diluída em água ou etanol aquoso e administrada por sondagem oro gástrica na dose de 50 - 100 mg/ kg, cerca de 3 a 5 doses perfazendo um total de 10 a 15 mg por animal SCHOENTAL, (1966). O mesmo composto foi utilizado no ano seguinte, provocando desta vez cânceres na porção glandular do estômago. Para isto, utilizaram a droga diluída na água de beber durante 12 meses. SUGIMURA e FUGIMURA, (1967).

Substâncias denominadas de surfactantes foram associadas ao MNNG e administradas oralmente a ratos, e concluiu-se que tais compostos pareciam aumentar a absorção do MNNG e provocavam cânceres menos diferenciados FUKUSHIMA, *et al.* (1974).

LANGHANS *et al.*, (1981a) constituíram seis grupos experimentais: G.1= Gastrectomia à BI, G.2= Gastrectomia à BII, G.3= Y de ROUX, G.4= Gastrectomia à BII com derivação de BRAUN, G.5= Gastroenteroanastomose e G.6= Laparotomia.

Metade dos animais de cada grupo receberam o MNNG (130 mg/ l), diluído na água de beber por 28 semanas após os procedimentos. Sacrificaram os animais com 56 semanas de seguimento e obtiveram as seguintes incidências de adenocarcinoma nos grupos, com ou sem o carcinógeno:

Com MNNG= G.1= 13,6 %, G.2= 38,9%, G.3 = 0%, G.4 =16,7%, G.5 =50% e G.6 = 5%; sem MNNG = G.1= 10%, G.2= 30%, G.3= 0% G.4= 23,1%, G.5= 70,8% e G.6= 0%.

Em 1989, alguns autores demonstraram que o uso de dieta rica em colesterol não aumentava a incidência de carcinogênese induzida pelo MNNG em ratos, com o estômago íntegro que recebiam a droga por via oral. Ocorreu, entretanto, que em ratos gastrectomizados esse efeito foi significativo. A explicação encontrada pelos autores para justificar tal aumento foi a de que a dieta rica em gordura aumentaria a secreção de bile, aumentando também o refluxo duodeno-gástrico, que seria, portanto, o grande potencializador do efeito das drogas MAKINO, *et al.* (1989).

Posteriormente, conseguiu-se induzir cânceres seletivamente na porção glandular do estômago de camundongos, que receberam N - Metil - N - Nitrosouréia, também na água de beber TATEMATSU, *et al.* (1993).

RODRIGUES (1995a), estudou a influência do refluxo biliopancreático sobre a carcinogênese gástrica em ratos tratados com o MNNG. Constituiu quatro grupos experimentais: G.1 e G.2= receberam MNNG(100 mg /l) diluído na água de beber durante 12 semanas, G.3 e G.4= sem o uso de carcinógeno.

Após o término das 12 semanas iniciais, os animais foram submetidos aos seguintes procedimentos: G.1= Gastroenteroanastomose; G.2= Não foi submetido a procedimento cirúrgico; G.3= Gastroenteroanastomose e G.4= Gastrotomia.

Esse autor diagnosticou adenocarcinoma apenas nos grupos G.1 e G.2, tratados com MNNG e com 66 semanas de seguimento. As incidências nestes grupos foram, respectivamente, de 90% e 82%. Observou ainda que, os adenocarcinomas foram diagnosticados somente na mucosa pilórica. Na região da anastomose dos grupos G.1 e G.3, ocorreram o desenvolvimento de lesões proliferativas benignas denominadas hiperplasia adenomatosa. O autor relacionou a etiopatogenia dessas lesões da boca anastomótica ao refluxo biliopancreático, assim como, o fato de que a exposição prévia ao MNNG não levou a malignização das lesões.

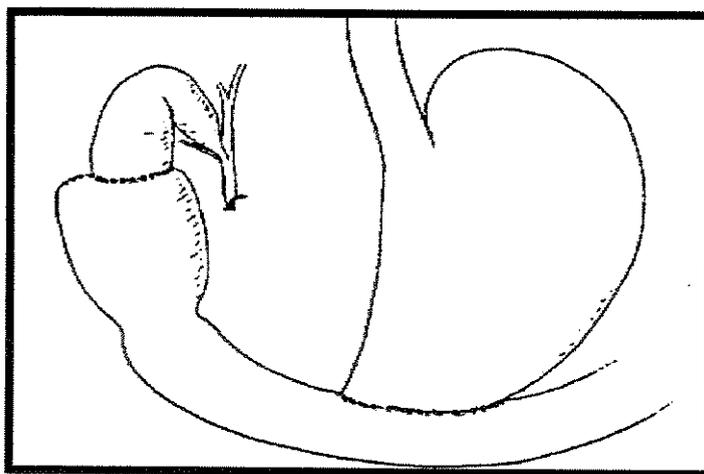
#### 4.1.2 - Modelos experimentais de indução de lesões proliferativas gástricas por refluxo duodeno-gástrico

A influência da bile na mucosa gástrica e seu papel na gênese do câncer gástrico têm sido amplamente estudado e gerado grande número de estudos.

O refluxo duodeno-gástrico pode ser estudado através de ressecção gástrica ou não, e com ou sem o uso de drogas PORTILLA, *et al.* (1990). Já o refluxo duodeno - gástrico no indivíduo normal ou no gastrectomizado, tem sido objeto de grande controvérsia: a exposição da mucosa gástrica ao conteúdo intestinal resulta em gastrite? -

Quais fatores desse conteúdo são responsáveis pelo aparecimento da gastrite? - A gastrite de refluxo induz ao câncer? A resposta não é simples, e os métodos de avaliação histológica auxiliam no estudo destes fatores (HEADING, 1983; RITCHIE, 1984; BEACHI *et al.* 1987). A gastrite que aparece após gastroenterostomias com ou sem gastrectomia tende a desaparecer após os procedimentos de derivação em Y, o que nos leva a crer que o conteúdo duodeno - jejunal seja o responsável pela lesão LAWSON, (1981).

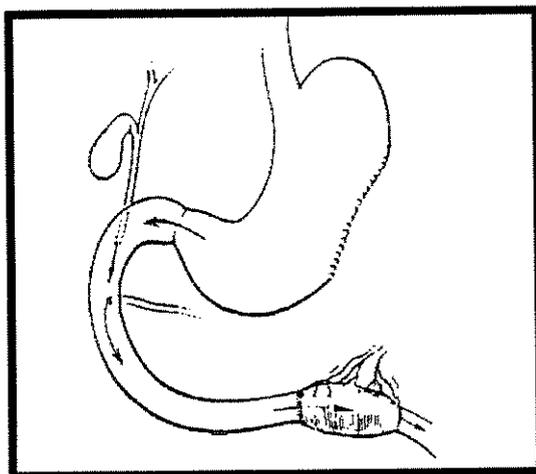
Os modelos com refluxo duodeno-gástrico podem ser divididos entre os que realizam ou não a ressecção gástrica. (HOUGHTON, *et al.* 1987; KONDO, *et al.* 1984; LANGHANS, *et al.* 1981 b; LANGHANS, *et al.* 1984). Os modelos com ressecção gástrica simulam as técnicas existentes na clínica cirúrgica (BILLROTH I ou II) acompanhados ou não de vagotomia troncular. Foram criados modelos em cães nos quais, a vesícula era anastomosada ao antro gástrico seguido de anastomose gastroduodenal (*figura 26*). Após 3 a 12 meses, em todos os animais ocorreram grandes alterações inflamatórias e proliferativas da mucosa (MENGUY, 1970).



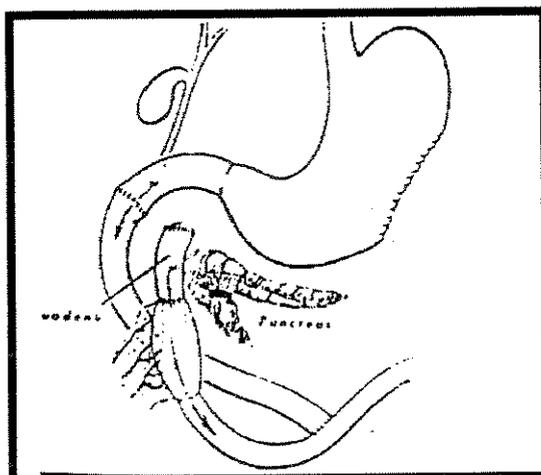
**Figura 26** - Anastomose antral - Vesicular e Gastroduodenal (Modificado de MENGUY, e MAX 1970).

DELANEY *et al.* (1975), idealizaram uma preparação onde confeccionaram um tubo a partir da grande curvatura gástrica. Tal tubo era exposto ao conteúdo duodenal, ou pancreático, ou biliar, (*figuras 27, 28 e 29*). As alterações encontradas foram: diminuição

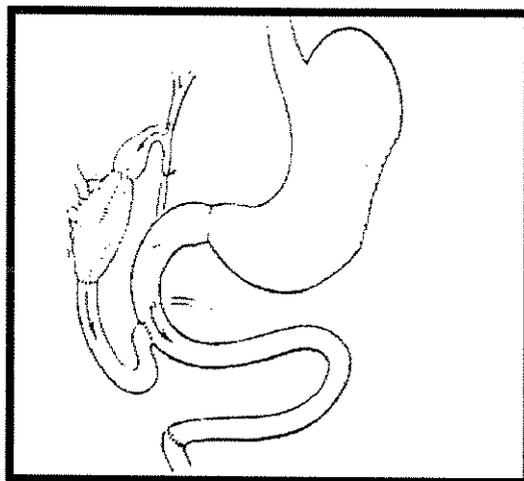
na densidade das células parietais e hiperplasia das células muco secretoras. Ocorreram ainda inflamação, desarranjo glandular e hiperplasia das glândulas de superfície. Não havia diferenças qualitativas nas lesões provocadas pela bile, suco pancreático ou jejunal, entretanto, quantitativamente as lesões foram maiores no segmento submetido ao banho jejunal DELANEY *et al.* (1975).



**Figura 27** - Tubo gástrico interposto em jejuno (Modificado de DELANEY *et al.* 1975).



**Figura 28** - Tubo gástrico banhado por suco pancreático (Modificado por DELANEY *et al.* 1975).

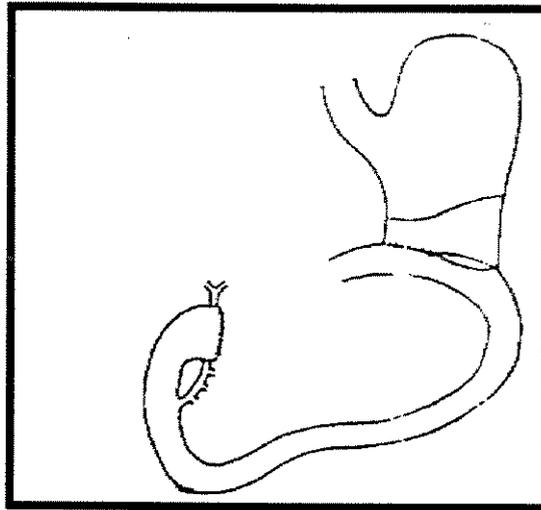


**Figura 29** - Tubo gástrico banhado por bile (Modificado de DELANEY *et al.* 1975).

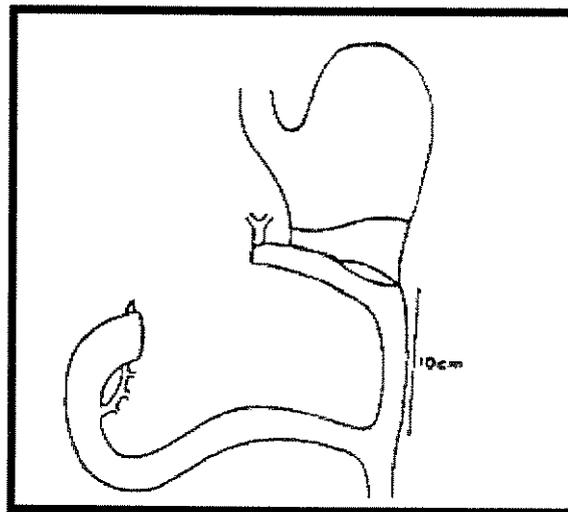
THEURING *et al.* (1985), subdividiram um grupo de ratos em cinco subgrupos, submetidos aos seguintes procedimentos cirúrgicos: G.1= Gastroenteroanastomose, G.2= Gastrectomia à BII, G.3= Ligadura duodenal + gastroenteroanastomose com derivação de Braun, G.4= Pilectomia com gastroenteroanastomose em Y de ROUX e G.5= Laparotomia.

Os animais foram submetidos ao sacrifício após 28 semanas de seguimento pós-operatório. A incidência de adenocarcinoma na região da anastomose foi a seguinte: G.1= 44,4%, G.2= 71,4%, G.3= 40%, G.4= 0 e G.5= 0.

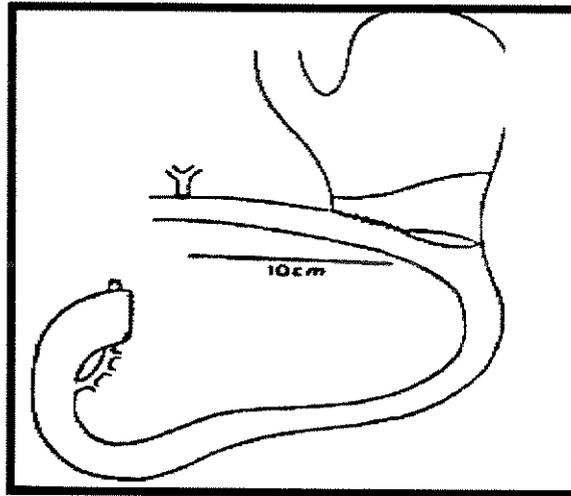
MASON (1986), realizou três tipos diferentes de procedimentos cirúrgicos, com a finalidade de obter refluxos seletivos de secreção biliar, pancreatoduodenal, ou ambas, na mucosa do coto gástrico de ratos. O objetivo do estudo era elucidar qual seria o componente do conteúdo duodenal, que seria responsável pelo desenvolvimento neoplásico: G. I, Laparotomia, G. II Gastrectomia BII (refluxo combinado), G. III, Gastrectomia parcial com refluxo exclusivo de secreção biliar, G. IV, Gastrectomia parcial com refluxo pancreatoduodenal. Após 36 semanas de seguimento, a incidência de adenocarcinoma foi a seguinte: G. I -0%, G. II-58%, G. III-0% e G. IV-71%. Os autores concluíram que o refluxo duodeno - gástrico estaria implicado na carcinogênese gástrica, e que as secreções pancreática e duodenal seriam responsáveis em maior grau do que a bile (*figuras 30, 31 e 32*), (MASON, 1986).



**Figura 30** - Refluxo combinado (Modificado de MASON, 1986).



**Figura 31** - Refluxo biliar (Modificado MASON, 1986).



**Figura 32 - Refluxo Pancreático- Duodenal (Modificado de MASON, 1986).**

Estudos em ratos acompanhados por 56 semanas no pós-operatório, comparando as técnicas que utilizam ou não ressecção do estômago, ou ainda, entre as reconstruções do tipo Billroth I (BI), Billroth II (BII), BII + operação de Braun, BII + Y de ROUX ou BII + gastroenterostomia, demonstraram que a frequência de câncer dependeu da operação realizada. A frequência foi mínima no BII + Y de ROUX, e máxima na gastroenterostomia sem ressecção gástrica. Concluíram que a reconstrução BII predispõe mais a câncer do coto do que à BI ou BII + Braun, salientando que as técnicas cirúrgicas que minimizam o refluxo duodeno-gástrico podem reduzir o risco de câncer no coto gástrico. (HOUGHTON, *et al.* 1987; LANGHANS, *et al.* 1981).

SZENTLÉLEKI *et al.* (1990), estudaram a relação entre o desenvolvimento de neoplasias e os diferentes tipos de ressecções parciais do estômago de ratos. Para tal, constituíram cinco grupos experimentais: G 1= Gastrectomia à BII; G 2= Gastrectomia à BI; G 3= gastrectomia com derivação de BRAUN; G 4 = Gastrectomia em Y de ROUX; G 5 = Laparotomia. Após o sacrifício realizado na 38ª semana de pós-operatório, obtiveram as seguintes incidências de adenocarcinoma: G 1 = 50%, G 2 = 28,5%, G 3= 6,7 %; G 4 = 12,5% e G 5 = 0. Ao concluir o trabalho, salientam que as técnicas cirúrgicas que minimizam o refluxo duodeno-gástrico podem reduzir o risco de câncer no coto gástrico.

KOBAYASI *et al.* (1991), utilizando ratos Wistar, constituíram cinco grupos experimentais assim caracterizados: G.1= Gastrotomia, G.2= Gastrectomia à BII, G.3=Gastrectomia à BII + conversão para Y de ROUX na 24ª semana, G.4= Gastrectomia à BII e conversão para Y de ROUX na 36ª semana e G.5= Gastrectomia em Y de ROUX.

Os sacrifícios dos animais dos grupos G.1 e G.2 foram realizados com 6, 12, 24, 36, e 54 semanas de pós-operatório. Nos grupos G.3, G.4 e G.5, na 54ª semana. No grupo G.1 não foi diagnosticado adenocarcinoma. No grupo G.2, a incidência de adenocarcinoma foi zero com 6 e 12 semanas, 7,7 % com 24 e 36 semanas e 3,7 % com 54 semanas. Nos grupos G.3, G.4 e G.5 na 54ª semana de pós-operatório, as taxas de incidência do adenocarcinoma foram respectivamente: G.3 = 6,6% G.4= 7,1% e G.5= 0. Nesse estudo foram utilizados critérios histológicos, considerando apenas o grau de atipias celulares para o diagnóstico do adenocarcinoma. As lesões proliferativas sem atipias celulares foram classificadas como hiperplasia ou hiperplasia adenomatosa. Através de métodos histoquímicos, observaram que as lesões proliferativas benignas expressavam o fenótipo de células gástricas e, as lesões malignas, o de células do intestino delgado. Concluíram que, as lesões proliferativas benignas não evoluem para o adenocarcinoma e que a incidência das mesmas diminui se o refluxo biliopancreático for interrompido.

TAYLOR *et al.* (1991), constituíram dois grupos experimentais de ratos Wistar: G.1= Gastrotomia e G.2= Gastrojejunoanastomose e parte dos animais de cada grupo foram sendo sacrificados a cada 8 semanas. No grupo G.1 não houve diagnóstico de displasia ou câncer. No grupo G.2, com 16 semanas de seguimento, a displasia leve foi diagnosticada e, com 32 semanas, o adenocarcinoma. Com 48 e 56 de seguimento pós-operatório, 15% dos animais do grupo G.2 tinham o diagnóstico de adenocarcinoma gástrico.

Os autores concluíram, que no procedimento de gastrojejunoanastomose ocorre carcinoma em maior frequência, e que havia também mais metaplasia intestinal. Além disto, nesses ratos, a hiperplasia da zona proliferativa do colo glandular, esteve associada com alterações malignas TAYLOR, *et al.* (1991).

KAMINISHI *et al.* (1992), estudaram em ratos as alterações do epitélio gástrico promovidas pelo refluxo do conteúdo duodenal através do piloro, associando-se ou não à vagotomia troncular. Constituíram 3 grupos experimentais: G.1= Gastrojejunoanastomose

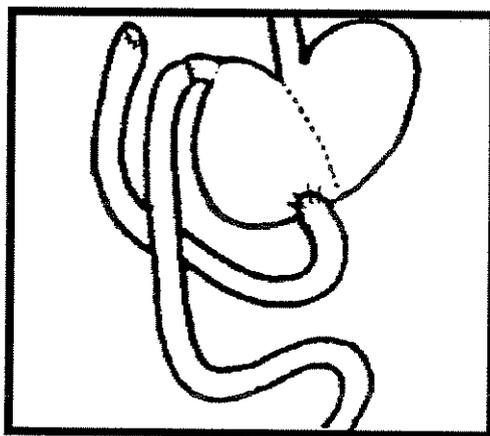
na curvatura maior, ao nível do epitélio escamoso associado à secção transversal do duodeno logo após a saída dos ductos biliares e pancreático, com sepultamento de ambas as bocas, obrigando a passagem do conteúdo duodenal pela mucosa gástrica através do piloro. G.2= procedimento semelhante ao G1, porém com vagotomia troncular e G.3 = Secção transversal do duodeno imediatamente abaixo do piloro, com sepultamento das duas bocas e em seguida, anastomose gastrojejunal com derivação de BRAUN na grande curvatura, ao nível do epitélio escamoso. Associaram também neste grupo a vagotomia troncular para avaliar os efeitos deste procedimento sem o refluxo duodeno-gástrico. Após 12 e 30 semanas de seguimento pós-operatório os animais foram sacrificados. Os autores não observaram desenvolvimento de carcinomas. No grupo G.1, houve desenvolvimento de úlceras gástricas crônicas, enquanto que no grupo G.2, ocorreu a formação de lesões macroscópicas com aspecto polipóide. A microscopia dessas lesões revelou a intensa atrofia das glândulas gástricas e a proliferação de lesões adenomatosas, cisticamente dilatadas, consideradas como lesões pré ou para-neoplásicas. O grupo G.3, não apresentou alterações significantes na mucosa gástrica.

Os autores concluíram que é necessário um segmento adequado quando se realiza vagotomia com procedimentos de drenagem, devido às alterações promovidas pelo refluxo duodeno-gástrico.

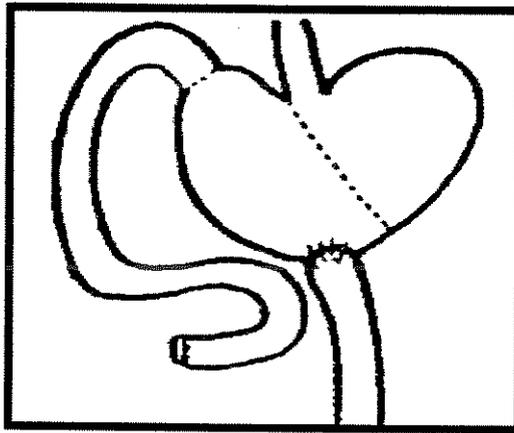
MIWA *et al.* (1992 a), avaliaram quais dos componentes do conteúdo duodenal estariam implicados na malignização da mucosa gástrica de ratos da linhagem Wistar. Os procedimentos cirúrgicos realizados permitiram que a secreção biliar ou a pancreatoduodenal isoladamente, ou a combinação de ambas, atingissem a mucosa gástrica através do piloro. Os grupos foram assim designados e caracterizados: G.1= Refluxo biliar, G.2= refluxo pancreatoduodenal G.3= Refluxo combinado e G.4= Gastrotomia.

Os animais foram sacrificados após 50 semanas dos procedimentos cirúrgicos. A incidência de adenocarcinoma foi nula nos grupos G.2 e G.4, enquanto no grupo G.1 atingiu 25% e 38% no grupo G.3. Observaram ainda que nos grupos que desenvolveram carcinomas também foram diagnosticados adenomas na mesma região dos carcinomas (região antral). Concluíram que a bile foi o fator desencadeante do desenvolvimento dos carcinomas gástricos, ao invés da secreção pancreatoduodenal. É interessante observar que estes resultados são divergentes daqueles obtidos por MASON (1986).

MIWA *et al.* (1992 b), realizaram novamente estudo analisando a influência do refluxo do conteúdo duodenal, através do piloro sobre a mucosa gástrica de ratos. Para este fim, constituíram 3 grupos experimentais: Grupo A= O jejuno foi seccionado logo após o ângulo de Treitz. A boca proximal foi sepultada e a distal anastomosada à porção glandular da curvatura maior do estômago. Grupo B= Inicialmente o duodeno foi seccionado e sepultado logo abaixo do piloro. Na seqüência, o jejuno foi seccionado transversalmente logo após o ângulo de Treitz. A sua boca proximal foi anastomosada á porção glandular da curvatura maior do estômago e a sua boca distal à boca proximal do duodeno, junto ao estômago. Grupo C= Gastrotomia. Todos os animais foram sacrificados após 50 semanas de pós-operatório. Não houve diagnóstico de adenocarcinoma no grupo C. No grupo A, 41% dos animais desenvolveram adenocarcinoma na região antral. No grupo B, em 31% dos ratos foi observada a malignização da mucosa na região da anastomose do jejuno proximal com a curvatura maior do estômago. Além dos carcinomas, lesões pré ou para neoplásicas, como adenomas e proliferações adenocísticas foram diagnosticadas nos grupos A e B nos mesmos locais dos carcinomas. Os resultados finais do autor revelaram que o refluxo duodeno - gástrico através do piloro em animais não submetidos à ressecção, resulta em adenocarcinoma do antro. (*Figuras 33 e 34*).



**Figura 33** - Refluxo através do piloro (Modificado de MIWA *et al.* 1992b).



**Figura 34** - Refluxo através da anastomose (Modificado de MIWA *et al.* 1992b).

Os possíveis mecanismos pelos quais a regurgitação do conteúdo duodeno-gástrico no estômago, provocaria câncer, são controversos. Um deles seria a facilitação à proliferação bacteriana na luz do órgão, que levaria a um aumento nas bactérias redutoras de nitratos induzindo a formação de compostos N – Nitrosos (MIRVISH, 1983; MIWA, *et al.* 1992b). A ação dos ácidos biliares e da lisolecitina no suco duodenal, também poderia destruir a membrana lipo - protéica protetora da mucosa levando à penetração mais fácil do carcinógeno na mesma. (MAKINO, *et al.* 1989; STERN, *et al.* 1984).

Outro aspecto a ser considerado, diz respeito à vagotomia, já que esta pode levar a retardo no esvaziamento gástrico com maior permanência de substâncias em contato com a mucosa HOUGHTON, *et al.* (1994).

Foi demonstrado em ratos Wistar que em condições agudas, a estimulação vagal provocaria liberação pelas células da mucosa, de muco contendo glico - proteínas que ficariam aderidas à mucosa, exercendo portanto, importante fator protetor. Para chegar a tais conclusões os autores estimularam a região inferior do esôfago com ondas de 10 v, com 15 ms de duração e com frequência de 10 por segundo. Através da coloração com Alcian - blue estudaram a quantidade de muco presente SOMASUDARAM, *et al.* (1987).

ANDREOLLO (1994), associou a vagotomia troncular a estudo de câncer de coto gástrico experimental, realizando tanto gastroenteroanastomose, como gastrectomia BII e gastrectomia a Y de ROUX, sendo que os animais divididos em grupos ingeririam água, nitritos e nitratos e uma Nitrosamina (total de 108 animais - 32 semanas de observação). A ocorrência de carcinoma foi registrada apenas entre os animais que ingeriram Nitrosamina (5,5%). Nos animais que ingeriram água, foi verificada a presença de Hiperplasia Glandular Cística, muito semelhante à Hiperplasia Adenomatosa, respectivamente, 13,8% nas gastroenteroanastomoses, 11,2% nas gastrectomias a BII e 8,4% nas gastrectomias a Y de ROUX.

MIWA *et al.* (1993), estudando dois grupos de ratos, realizaram gastrectomia parcial à BILLROTH I (G1) e gastrectomia à BILLROTH II (G2), respectivamente. Os animais foram sacrificados após 50 semanas. A incidência de adenocarcinomas foi zero no G1 e 20,8% no G2. Diante dos resultados, foi atribuída à gastrectomia à BILLROTH II, um risco potencial de câncer maior em relação à gastrectomia à BI.

SAAD (1993), subdividiu ratos Wistar em três grupos caracterizados pelos seguintes procedimentos: G.1 = Gastrotomia, G.2 = Gastrectomia à BII e G.3 = Gastrectomia em Y de ROUX.

O seguimento pós-operatório foi realizado até 64ª semana. O sacrifício de parte dos animais de cada grupo foi realizado seqüencialmente com 24, 36, 54 e 64 semanas de pós-operatório. Observaram o desenvolvimento de adenocarcinoma somente no grupo G.2. As taxas de incidência obtidas em relação aos momentos do sacrifício foram as seguintes: 24ª semana= 7,7%, 36ª semana= 7,7%, 54ª semana= 7,7 % e 64ª semana= 9,5 %. O autor conclui o trabalho, salientando o efeito promotor da secreção biliopancreática.

MIWA *et al.* (1994), constituíram três grupos experimentais com ratos da linhagem Wistar. No grupo G.1 foi realizada secção transversal do duodeno logo após o piloro, com sepultamento da boca distal; o jejuno proximal foi seccionado e a boca proximal foi anastomosada à curvatura maior do estômago escamoso, assim como, a boca distal ao duodeno proximal, junto ao piloro. O grupo G.2, foi submetido à secção do jejuno proximal, com sepultamento da boca proximal e a anastomose entre a boca distal e a curvatura maior gástrica na região do epitélio escamoso. No grupo G.3, foi realizada laparotomia.

Os animais foram sacrificados após 50 semanas de seguimento, e obtiveram-se os seguintes resultados que se encontram descritos a seguir: (*tabela 9*).

**Tabela 9** - Frequência de lesões histológicas segundo a localização anatômica nos grupos G1, G2 e G3. (MIWA *et al.*, 1994).

|                                       | G1  | G2  | G3 |
|---------------------------------------|-----|-----|----|
| <b>Carcinoma de células escamosas</b> |     |     |    |
| Esôfago                               | 18% | 0   | 0  |
| Estômago escamoso                     | 9%  | 3%  | 0  |
| <b>Adenocarcinoma</b>                 |     |     |    |
| Esôfago                               | 0   | 0   | 0  |
| Estômago escamoso                     | 9%  | 0   | 0  |
| Estômago glandular                    | 0   | 33% | 0  |

Diante dos resultados, os autores concluem, que o refluxo duodeno-gástrico está implicado na etiopatogenia do câncer do estômago e do esôfago dos ratos.

KAMINISHI *et al.* (1995), realizaram estudo em ratos, divididos em 4 grupos: G.1= Gastrectomia à BI, G.2= Gastrectomia à BII, G.3= Gastrectomia à BI + vagotomia troncular e G.4= Gastrectomia à BII + vagotomia troncular.

Trinta semanas após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram sacrificados e as peças cirúrgicas (coto gástrico + anastomose) foram submetidas a exame histológico após o processamento do material. A incidência de adenocarcinoma obtida nos diferentes grupos foi: G1 = 0, G2 = 0, G3= 42% e G4 = 33%.

Os autores concluíram com bases nesses resultados, que além do refluxo duodeno-gástrico, a vagotomia também influência na etiopatogenia do câncer do coto gástrico.

EHRNSTRÖM *et al.* (1995), realizaram estudo em ratos para verificar se a adição de ácido acético na dieta de ratos gastrectomizados a BII influenciaria na incidência de adenocarcinomas. Constituíram dois grupos experimentais: G1= Gastrectomia a BII + dieta padrão e G2 = Gastrectomia a BII + dieta com ácido acético.

Os animais foram sacrificados após 40 semanas, tendo-se verificado incidência de adenocarcinoma de 25% no grupo 1 e de 20,8% no grupo 2. Em ambos os grupos, as lesões localizaram-se na região da anastomose, local onde também foram diagnosticadas lesões adenomatosas benignas em 60% dos animais de ambos os grupos. Os autores chamam a atenção para o fato de que o processo inflamatório e a formação de granulomas no local da anastomose, realizada com fio inabsorvível, podem levar ao acometimento de erros na análise histopatológica.

RODRIGUES (1995 b), estudou o potencial de desenvolvimento neoplásico na mucosa gástrica de ratos Wistar que foram divididos em 4 grupos: G.1 = Gastrotomia, G.2 = Gastrectomia à BII, G.3 = Gastrectomia em Y de ROUX G.4 = Y de ROUX + Vagotomia troncular. Cinquenta e quatro semanas após a cirurgia, os animais foram sacrificados e as peças cirúrgicas submetidas a exame histológico. O diagnóstico de adenocarcinoma foi realizado somente em um animal do grupo 2 ( n = 13). No grupo 4, a associação da vagotomia troncular promoveu uma redução significativa na incidência de úlceras de boca anastomótica, quando comparada com os grupos 2 e 3.

RODRIGUES (2000), estudou também o refluxo das secreções do conteúdo duodenal em grupos de ratos Wistar, constituindo três grupos experimentais: Grupo I = Controle com gastrotomia, Grupo II = Refluxo, sendo realizado gastrojejunoanastomose e após 2 semanas realização de ligadura da alça aferente, desviando o conteúdo duodenal através do piloro. O grupo III foi denominado Reversão. Procedimento semelhante ao grupo II, porém na 36ª semana de pós-operatório foi restabelecido o trânsito alimentar através de anastomose látero-lateral entre alça aferente e eferente.

Os animais foram submetidos a sacrifício após a 54ª semana de seguimento pós-operatório, obtendo-se: Grupo II - **Hiperplasia Adenomatosa** no antro: 68,75%, **Hiperplasia Adenomatosa** na anastomose: 43,75% e **Hiperplasia Escamosa**: 62,5%;

Grupo III - **Hiperplasia Adenomatosa** no antro: 50%, **Hiperplasia Adenomatosa** na região da anastomose: 85,71%, **Hiperplasia Escamosa**: 14,2% e **Adenocarcinoma**: 1 animal. O autor concluiu que o refluxo através do piloro propiciou o desenvolvimento de lesões proliferativas, predominantemente benignas, na mucosa gástrica dos ratos Wistar. A interrupção do refluxo ocasionou um efeito inibidor no crescimento das áreas de **Hiperplasia Adenomatosa**, e levou à diminuição da incidência de **Hiperplasia Escamosa**, confirmando a característica histológica benigna dessas lesões. O autor obteve desenvolvimento neoplásico raro neste modelo experimental.

OVREBO *et al.* (2002), realizaram estudo experimental envolvendo três grupos: controle, refluxo duodeno-gástrico e refluxo duodeno-gástrico através do piloro. Os animais foram sacrificados após 24, 36 ou 52 semanas. Observaram que ulcerações e neoplasias foram mais freqüentes na porção glandular do estômago. Nesta porção, as ulcerações foram observadas com maior freqüência nos animais com o refluxo duodeno-gástrico em comparação ao grupo de refluxo através do piloro. A incidência de neoplasia na porção glandular aumentou significativamente com o aumento do período pós-operatório, de 38% nas 24 semanas para 89% na 52ª semana nos animais submetidos ao refluxo duodenal, e de 12 para 33% nos animais submetidos ao refluxo através do piloro. Os autores concluíram que as ulcerações precedem o desenvolvimento de neoplasias no estômago glandular e que os efeitos do refluxo duodeno-gástrico são mais pronunciados no corpo do que na mucosa pré-pilórica.

LIU *et al.* (2003), realizaram estudo envolvendo três grupos: Grupo I controle, Grupo II, refluxo duodeno-gástrico e Grupo III, refluxo duodeno-gástrico através do piloro. Os animais foram sacrificados três semanas após o procedimento cirúrgico. As lesões foram observadas macro e microscopicamente. Foram medidos os valores de pH e os níveis de bilirrubina no fluido gástrico. Avaliou-se através de métodos químicos a atividade da Myeloperoxidase (MPO). Como resultado macroscópico, no grupo submetido ao refluxo duodeno-gástrico, observaram lesões da mucosa como erosões, úlceras e focos de hiperemia. Microscopicamente, no grupo submetido ao refluxo duodeno-gástrico, os autores identificaram hiperplasia adenomatosa, porém, não foi evidenciado metaplasia intestinal. Os valores de pH e os níveis de bilirrubina na secreção gástrica aumentaram

significativamente. Os autores concluíram que mesmo em pequenos períodos, já podem ser observados danos à mucosa submetida ao refluxo duodeno-gástrico, como a hiperplasia adenomatosa e a destruição da junção pilórica, sem, no entanto, a presença de infiltrado inflamatório e atividade da Myeloperoxidase.

## **4. 2 - Análise dos modelos experimentais em carcinogênese gástrica**

### **4.2.1 - Gastroenteroanastomoses, sem ressecção gástrica, em ratos tratados com MNNG**

LANGHANS, *et al.* (1981b), obtiveram uma incidência de 50% de adenocarcinomas quando realizaram a gastroenteroanastomose, mas não menciona o local das lesões, ou seja, não fica claro se ocorreram na anastomose ou em outro local.

RODRIGUES (1995 a), detectou uma incidência de 90%, e as lesões localizavam-se na região da mucosa pilórica. Esse autor não obteve carcinomas na anastomose, onde observou lesões proliferativas benignas (hiperplasia adenomatosa) no grupo que recebeu o tratamento com o carcinógeno, assim como naquele não tratado. Concluiu-se que a exposição prévia ao MNNG não leva à malignização dessas lesões.

### **4.2.2 - Gastrectomias à BILLROTH II em ratos sem carcinógeno**

Na **Tabela 10**, a seguir, foram resumidos as frequências (%) de adenocarcinoma nos grupos gastrectomizados à BILLROTH II e controle (C), e o tempo de observação (T), de autores que realizaram pesquisas neste assunto.

**Tabela 10** - Frequência de adenocarcinoma (%) nos grupos gastrectomizados à BII e controle (C) e o Tempo de seguimento (T), de acordo com os autores.

|                                  | (%)<br><b>BII</b> | (%)<br><b>C</b> | <b>T</b><br>(Semanas) |
|----------------------------------|-------------------|-----------------|-----------------------|
| LANGHANS <i>et al.</i> (1981a)   | 30                | 0               | 56                    |
| THEURING <i>et al.</i> (1985)    | 71,4              | 0               | 28                    |
| MASON (1986)                     | 58                | 0               | 36                    |
| SZENTLÉLEKI <i>et al.</i> (1990) | 50                | 0               | 38                    |
| KOBAYASI <i>et al.</i> (1991)    | 3,7               | 0               | 54                    |
| MIWA <i>et al.</i> (1993)        | 20,8              | 0               | 50                    |
| SAAD (1993)                      | 9,5               | 0               | 64                    |
| EHRNSTRÖM <i>et al.</i> (1995)   | 25,0              | 0               | 40                    |
| RODRIGUES (1995b)                | 7,6               | 0               | 54                    |
| KAMINISHI <i>et al.</i> (1995)   | 0                 | 0               | 30                    |

Os dados deixam claro que a ressecção gástrica parcial à BILLROTH II, propicia a malignização da mucosa do coto gástrico, entretanto, existe grande variabilidade na incidência. As taxas variam de 0% a 71,4%. A causa dessa variabilidade não está relacionada com o tempo de observação. Era de se esperar que um tempo de seguimento maior ocasionasse uma elevação na incidência de adenocarcinoma, pois acredita se que essas lesões sejam decorrentes da exposição da mucosa gástrica ao refluxo do conteúdo duodenal. TAYLOR *et al.* (1991), atribuem essa variabilidade a uma susceptibilidade não homogênea dos ratos da linhagem Wistar à indução tumoral.

KOBAYASI *et al.* (1991), acreditam que o uso de critérios histológicos para o diagnóstico de câncer em região de anastomose devam ser revistos, pois podem influenciar nos resultados dos estudos. O processo cicatricial e a desorganização estrutural na zona de anastomose podem levar ao diagnóstico errôneo de carcinomas nesse local e, portanto, causar uma hiperestimativa dos mesmos.

#### 4.2.3 - Gastrectomias à BILLROTH I em ratos sem carcinógeno

A frequência (%) de adenocarcinoma em ratos submetidos à gastrectomia BILLROTH I e nos seus respectivos controles, assim como o tempo do seguimento de quatro experimentos, podem ser avaliados na **tabela 11**.

**Tabela 11** - Frequência de adenocarcinoma (%) em ratos gastrectomizados à BILLROTH I (BI) Controle (C) e o respectivo tempo de seguimento (T) em semanas.

|                                  | (%)<br>BI | (%)<br>C | T<br>(Semanas) |
|----------------------------------|-----------|----------|----------------|
| LANGHANS <i>et al.</i> (1981 a)  | 10,0      | 0        | 56             |
| SZENTLÉLEKI <i>et al.</i> (1990) | 28,5      | 0        | 38             |
| MIWA <i>et al.</i> (1993)        | 0         | 0        | 50             |
| KAMINISHI <i>et al.</i> (1995)   | 0         | -        | 30             |

Na **tabela 11**, verifica-se que o reduzido número de trabalhos dificulta a tomada de conclusões sobre o potencial carcinogênico de gastrectomia à BILLROTH I. O tempo de seguimento não influencia nos percentuais de lesão. MIWA *et al.* (1993), e KAMINISHI *et al.* (1995) encontraram taxas de incidência nulas, enquanto LANGHANS *et al.* (1981 a), e SZENTLÉLEKI *et al.* (1990), relataram taxas de 10% e 28,5% respectivamente. Esses dados sugerem um potencial de desenvolvimento neoplásico também nos ratos submetidos à gastrectomia à BILLROTH I.

#### 4.2.4 - Gastrectomias à BILLROTH II versus BILLROTH I em ratos

A comparação desses dois procedimentos será importante para entender a afirmação de LANGHANS *et al.* (1981 a). Esse autor relata que a incidência de adenocarcinoma correlaciona-se com a intensidade de refluxo das secreções do conteúdo duodenal. Na **tabela 12** estão discriminadas as frequências (%) de adenocarcinoma nos dois procedimentos e o respectivo tempo de seguimento (T) em semanas de cada trabalho.

**Tabela 12** - Comparação da frequência de adenocarcinoma (%) em ratos gastrectomizados à **BILLROTH I** ou à **BILLROTH II (BII)** e o tempo de seguimento (T).

|                                  | (%) BI | (%) BII | T<br>(semanas) |
|----------------------------------|--------|---------|----------------|
| LANGHANS <i>et al.</i> (1981 a ) | 10,0   | 30,0    | 56             |
| SZENTLÉLEKI <i>et al.</i> (1990) | 28,5   | 50,0    | 38             |
| MIWA <i>et al.</i> (1993)        | 0      | 20,8    | 50             |
| KAMINISHI <i>et al.</i> (1995)   | 0      | 0       | 30             |

Em três dos quatro trabalhos, a frequência de adenocarcinoma foi superior nas gastrectomias à BILLROTH II, confirmando a hipótese de LANGHANS *et al.* (1981a ).

#### 4.2.5 - Gastrectomias em Y de ROUX em ratos

A *tabela 13*, demonstra a frequência (%) de adenocarcinoma em ratos gastrectomizados em Y de ROUX, e para efeito de comparação, as mesmas taxas para a gastrectomia à BII, bem como o respectivo tempo de seguimento de cada trabalho.

**Tabela 13** - Comparação da frequência (%) de adenocarcinoma em ratos submetidos à gastrectomia à **BILLROTH II (BII)** ou em Y de ROUX e o tempo de observação (T).

|                                  | (%)Y de ROUX | (%) BII | T (semanas) |
|----------------------------------|--------------|---------|-------------|
| LANGHANS <i>et al.</i> (1981 a)  | 0            | 30,0    | 56          |
| KOBAYASI <i>et al.</i> (1991)    | 0            | 3,7     | 54          |
| SAAD (1993)                      | 0            | 9,5     | 64          |
| RODRIGUES (1995 b)               | 0            | 7,6     | 54          |
| SZENTLÉLEKI <i>et al.</i> (1990) | 12,5         | 50,0    | 38          |

A análise dos dados desta tabela, evidência o efeito protetor do desvio das secreções do conteúdo duodenal da mucosa do coto gástrico. O único resultado discrepante dos demais foi o de SZENTLÉLEKI *et al.* (1990), com uma incidência de 12,5 %. Os autores atribuem esta incidência, ao fato de terem usado uma distância insuficiente entre a gastrojejunoanastomose e a enteroanastomose, que desvia as secreções do conteúdo duodenal do coto gástrico. Outra explicação possível seria a ocorrência de fistulas entre o coto duodenal e a gastrojejunoanastomose. Embora os referidos autores não considerem esta possibilidade, LANGHANS *et al.*, (1981 b), demonstram que a ocorrência dessa complicação não é um evento raro.

#### 4.2.6 - Gastroenteroanastomoses, sem ressecção gástrica em ratos sem carcinógeno

A comparação das taxas de frequência de adenocarcinoma nas gastroenteroanastomoses e dos respectivos controles, bem como o tempo de seguimento, podem ser observados na **tabela 14**.

**Tabela 14** - Comparação da frequência de adenocarcinoma (%) em ratos submetidos à Gastroenteroanastomose (GE) sem ressecção gástrica, seus respectivos Controles (C), bem como o tempo de observação (T) em semanas.

|                                 | (%) GE | (%) C | (T) Semanas |
|---------------------------------|--------|-------|-------------|
| SCHLAG <i>et al.</i> (1977)     | 0      | 0     | 35          |
| LANGHANS <i>et al.</i> (1981 a) | 70,8   | 0     | 56          |
| THEURING <i>et al.</i> (1985)   | 44,4   | 0     | 28          |
| TAYLOR <i>et al.</i> (1991)     | 15,0   | 0     | 56          |
| RODRIGUES (1995 a)              | 0      | 0     | 66          |
| OVREBO <i>et al.</i> (2002)     | 38     | 0     | 24          |
| OVREBO <i>et al.</i> (2002)     | 89     | 0     | 52          |
| LIU <i>et al.</i> (2003)        | 0      | 0     | 3           |

Em cinco dos trabalhos citados na *tabela 14*, as taxas de frequência mostraram-se superiores a dos controles, enquanto que nos outros não foi observada diferença, ou seja, a incidência foi nula. É presumível, portanto, que a gastroenteroanastomose, ao propiciar o refluxo duodeno-gástrico, possa ser considerada como procedimento de risco para o desenvolvimento neoplásico, e diretamente proporcional ao tempo de exposição da mucosa a este refluxo.

#### 4.2.7 - Análise global dos modelos experimentais

A análise global deste tópico permite-nos salientar algumas características dos modelos experimentais de carcinogênese gástrica:

- 1- A frequência de adenocarcinoma aumenta quando o procedimento cirúrgico realizado promove o contato das secreções duodenais com a mucosa gástrica, ou melhor, com a região da anastomose. É neste local que a maioria das neoplasias malignas são diagnosticadas.
- 2- A localização preferencial das lesões na região da anastomose não possui relação direta com o procedimento cirúrgico, mas com o contato mais intenso desse local com as secreções duodenais. Esse fato fica evidente quando comparamos as incidências de adenocarcinoma em animais submetidos à gastrectomia parcial em Y de ROUX com os submetidos à ressecção gástrica parcial à BILLROTH II.
- 3- A intensidade do refluxo das secreções do conteúdo duodenal parece correlacionar-se com a incidência de adenocarcinomas. As taxas mais elevadas nos procedimentos de gastroenteroanastomose, seguidas em ordem crescente, pela gastrectomia à BILLROTH II, BILLROTH I e em Y de ROUX (LANGHANS *et al.* 1981a,b; SZENTLÉLEKI *et al.* 1990).
- 4- Para procedimentos semelhantes, existe grande variabilidade nas taxas de incidência de adenocarcinoma nos diversos trabalhos citados. Provavelmente essa variação ocorra devido à utilização de critérios histológicos diferentes ou à variação na susceptibilidade à indução de neoplasias em ratos da mesma linhagem. (SZENTIRMAY e SUGAR, 1973; OHGAKI *et al.*, 1983).

### 4.3 - Animal de experimentação, fio de sutura e tempo de seguimento

A escolha dos ratos, particularmente os da linhagem WISTAR para a realização desta pesquisa, deveu-se a alguns motivos:

- a) Raramente ocorre o desenvolvimento espontâneo de adenocarcinoma no estômago glandular desses animais. BULLOCK e CURTIS (1930), relatam apenas um adenocarcinoma e nove sarcomas entre 33.000 ratos. GOODMAN *et al.* (1979), relatam o diagnóstico de um fibrossarcoma entre 1974 ratos da linhagem FISCHER 344 e um leiomiosarcoma entre 1754 animais dessa mesma linhagem.
- b) A maioria dos modelos experimentais em carcinogênese gástrica utiliza-se de ratos da linhagem WISTAR e, visando facilitar a comparação dos dados, optou-se por essa linhagem (MORGESTERN, 1968; RUMPF *et al.* 1978; SALMON, 1982; NISHIDOI *et al.* 1984; MASON, 1986; HOUGHTON *et al.* 1987; KOBAYASI *et al.* 1994 a, b).

A opção de utilizarmos fio de sutura polipropileno 6-0 para a realização das anastomoses deveu-se ao fato desse material causar pouca reação inflamatória, efeito desejável, uma vez que isto poderia levar a erros na interpretação histológica.

Quanto ao tempo de seguimento, o intervalo de 36 semanas mostrou-se interessante por esse período ser suficiente para que ocorra o desenvolvimento de neoplasias gástricas malignas, bem como, para o aparecimento de lesões proliferativas, como a **Hiperplasia Adenomatosa**. Em trabalho realizado em nosso meio por KOBAYASI *et al.* (1991), confirmaram esses fatos.

O local da anastomose realizada na parede posterior do estômago glandular do animal, deveu-se ao fato de que os trabalhos que envolvem refluxo duodeno-gástrico normalmente posicionam a anastomose na parede anterior. Desta forma, pode-se comparar os dados da literatura com os obtidos no presente estudo e verificar se o local da anastomose influencia na incidência de lesões proliferativas da mucosa gástrica.

#### 4.4 - Lesões Macroscópicas

No presente estudo, observa-se macroscopicamente maior número de lesões nos animais do grupo III (refluxo através do piloro); 28 % no estômago escamoso, 88% ao nível da anastomose e 20% ao nível da mucosa pré-pilórica, enquanto que no grupo II, a frequência foi respectivamente de 12 %, 36 % e 0% ao nível do piloro. As lesões vegetantes diagnosticadas nas regiões do antro, anastomose e estômago escamoso têm sua etiopatogenia associada ao contato das secreções duodenais com essas regiões. A ausência dessas lesões nos animais do grupo I (controle) permite-nos fazer esta afirmação. Nos animais onde o refluxo das secreções do conteúdo duodenal não se processou ao nível da mucosa pré-pilórica, a incidência de lesões macroscópicas foi nula. Além disso, RODRIGUES (2000), demonstrou em seu trabalho que quando a mucosa gástrica não era mais submetida ao refluxo das secreções do conteúdo duodenal, após a reversão do procedimento cirúrgico com 36 semanas de pós-operatório, ocorria diminuição da incidência das lesões vegetantes nas regiões do antro e do estômago escamoso, demonstrando uma clara relação causa-efeito entre essas duas variáveis. Ainda neste estudo, pôde-se concluir que a mucosa da região antral do rato é, provavelmente, mais susceptível à ação dos componentes das secreções duodenais do que outros locais no estômago. Observou-se no antro maior número de lesões macroscópicas e também onde a incidência dessas lesões nitidamente diminuiu com a interrupção do refluxo sobre a mucosa desta região.

#### 4.5 - Considerações sobre o exame Histopatológico

##### 4.5.1 - Hiperplasia Adenomatosa

Esse tipo de lesão caracteriza-se pela proliferação excessiva de glândulas sem atipias celulares e apresenta-se com duas formas de crescimento: o endofítico e o exofítico. No primeiro, a proliferação glandular ocorre nas camadas profundas da mucosa pré-pilórica e o segundo corresponde às lesões vegetantes que se observou à macroscopia do estômago glandular. No grupo II (RDG), a incidência de **Hiperplasia Adenomatosa** na região da

mucosa pré-pilórica foi nula, enquanto que na mucosa ao nível da anastomose foi de 40%. No grupo III (RDG-P) obtivemos 40% de lesões na mucosa pré-pilórica, enquanto ao nível da anastomose 72%, havendo diferença estatística significativa entre os grupos.

A característica involutiva das lesões do tipo **Hiperplasia Adenomatosa**, com a interrupção do refluxo das secreções do conteúdo duodenal, também já foi verificada em ratos gastrectomizados à BILLROTH II e convertidos em Y de ROUX na 36ª semana de pós-operatório por KOBAYASI *et al.* (1991). Neste modelo, as lesões do tipo **Hiperplasia Adenomatosa** ocorriam na linha de anastomose e sua incidência diminuía significativamente após a conversão em Y de ROUX.

RODRIGUES (2000), concluiu em seu trabalho que as lesões do tipo **Hiperplasia Adenomatosa**, apresentavam comportamento não progressivo com a interrupção do refluxo das secreções do conteúdo duodenal, denotando característica benigna dessas lesões; entretanto, a **Hiperplasia Adenomatosa** é uma lesão proliferativa e acredita-se que o aumento na taxa de proliferação celular seja um dos pré-requisitos para a malignização (BYRNE e ATTWOOD, 1999).

#### 4.5.2 - Hiperplasia Escamosa

O epitélio que reveste o terço proximal do estômago dos ratos é do tipo escamoso, semelhante ao que recobre o esôfago desses animais. Conseqüentemente, espera-se que os efeitos obtidos com o refluxo das secreções do conteúdo duodenal sobre a mucosa esofágica devam ser semelhantes, quando o mencionado refluxo atua sobre o revestimento escamoso do terço proximal do estômago dos ratos. Vários trabalhos experimentais vêm demonstrando as relações entre a carcinogênese esofágica e o refluxo do conteúdo das secreções duodenais (PERA *et al.* 1989; SETO *et al.* 1991; ATTWOOD *et al.* 1992; PERA *et al.* 1993; CLARK *et al.* 1994; MIWA *et al.* 1994; MIWA *et al.* 1996; PERA *et al.* 1998).

No presente trabalho, não se observou a ocorrência de malignização da mucosa escamosa que recobre o terço proximal do estômago dos ratos do grupo II (RDG), ou o grupo III (RDG-P), quando exposta ao refluxo duodeno-gástrico durante 36 semanas de

seguimento pós-operatório. Observa-se por outro lado, o desenvolvimento de hiperkeratose e espessamento do epitélio pavimentoso estratificado. Os resultados desta pesquisa contrastam com os obtidos por MIWA *et al.* (1994), que relataram o desenvolvimento de carcinomas de células escamosas com modelo de indução de refluxo duodeno-gástrico semelhante ao utilizado no presente estudo, porém com tempo de seguimento superior (50 semanas), sugerindo uma inter-relação entre o tempo de exposição e o desenvolvimento neoplásico. Além disso, estes autores realizaram a anastomose junto à curvatura maior do estômago escamoso, expondo mais esta região ao refluxo, quando comparado com a anastomose ao nível do estômago glandular.

#### 4.5.3 - Adenocarcinoma Mucinoso

Esta lesão foi diagnosticada em três animais (12%) do grupo III (RDG-P, n= 25) ao nível da anastomose (parede posterior da mucosa glandular). A localização da anastomose na parede posterior foi diferente dos demais trabalhos com modelos de refluxo duodeno - gástrico, onde as anastomoses normalmente processam-se na parede anterior. Quando comparamos a incidência dessa lesão àquelas que foram obtidas em trabalhos anteriormente realizados em nosso meio, observamos resultados semelhantes (KOBAYASI *et al.* 1991; SAAD, 1993; RODRIGUES 1995b). O fato da lesão não se localizar na região da mucosa pré-pilórica, mas na região da anastomose, pode ser apenas casual ou denotar que o procedimento cirúrgico (anastomose) possa ter relação com a etiopatogenia da lesão. Se compararmos as incidências de adenocarcinoma em ratos submetidos à gastrectomia à BILLROTH (BII) ou em Y de ROUX, veremos que o procedimento cirúrgico, aparentemente, não é tão importante. As incidências são elevadas nos gastrectomizados à BII e praticamente nulas nos reconstituídos em Y de ROUX, denotando que o fator determinante é o refluxo duodeno- gástrico ocasionado pela reconstrução à BII. No entanto, a coaptação de dois tipos diferentes de epitélio, a desorganização da estratificação das camadas epiteliais, a presença de um corpo estranho (fio de sutura) podem, teoricamente, levar ao desenvolvimento de processo inflamatório crônico, e desta forma atuarem como co-fatores no processo de carcinogênese na região da anastomose. TAYLOR *et al.* (1991), estudando a atividade da ornitina-descarboxilase e as

concentrações de poliaminas na mucosa de ratos submetidos à gastrojejunoanastomose ou a gastrotomia (grupo controle), obtiveram valores mais elevados no primeiro caso. Estes resultados sugerem que o refluxo duodeno-gástrico estimule a proliferação de células mucosas na região da anastomose.

OVREBO *et al.* (2002), observaram em seu estudo que as neoplasias diagnosticadas foram mais freqüentes na região da gastroenteroanastomose e que os efeitos do refluxo duodeno-gástrico são mais pronunciados nesta região do que na mucosa pré-pilórica, e ainda que as lesões aumentam significativamente com o aumento do tempo de refluxo duodeno-gástrico.

LIU *et al.* (2003), não diagnosticaram adenocarcinomas em seu estudo, cujo período de observação foi de 3 semanas, confirmando a relação entre o tempo de exposição da mucosa ao refluxo duodeno-gástrico e o desenvolvimento da neoplasia.

No presente trabalho, as lesões do tipo adenocarcinoma ocorreram todas ao nível da anastomose, porém não podemos afirmar se estas lesões ocorreram oriundas de **Hiperplasia Adenomatosa**. Observou-se a presença simultânea de neoplasia com as lesões do tipo **Hiperplasia Escamosa**, **Hiperplasia Adenomatosa** ao nível da mucosa pré-pilórica e **Hiperplasia Adenomatosa** ao nível da anastomose, ao lado do **Adenocarcinoma**.

#### 4.6 - Resultados do presente estudo versus Literatura

Em relação à metodologia utilizada para induzir-se o refluxo duodeno-gástrico, existem cinco trabalhos citados na literatura que utilizam grupos experimentais semelhantes ao grupo III (RDG-P-) do presente estudo (MIWA *et al.* 1992b; KAMINISHI *et al.* 1992; RODRIGUES 2000; OVREBO *et al.* 2002; LIU *et al.* 2003). Embora a técnica utilizada para induzir-se o refluxo duodeno-gástrico através do piloro tenha sido semelhante nos seis trabalhos, houve diferença no posicionamento da gastrojejunoanastomose. Nos trabalhos de MIWA *et al.* (1992b) e KAMINISHI *et al.* (1992), ela foi posicionada na porção do epitélio glandular da curvatura maior e na parede anterior do estômago. No trabalho de

RODRIGUES (2000), a anastomose foi realizada próxima à curvatura menor e também na parede anterior. Os trabalhos de OVREBO *et al.* (2002) e LIU *et al.* (2003), não citam o local onde a anastomose foi realizada. No presente estudo posicionou-se a anastomose ao nível da parede posterior, próxima à grande curvatura. Houve diferença também quanto ao tempo de seguimento dos trabalhos, sendo 30 semanas no estudo de KAMINISHI *et al.* (1992), de 50 semanas no de MIWA *et al.* (1992b), 54 semanas no estudo de RODRIGUES (2000). OVREBO *et al.* (2002) estudaram durante 24, 36 e 52 semanas; LIU *et al.* (2003), apresentavam tempo de observação de três semanas, enquanto neste estudo o tempo foi de 36 semanas.

Os resultados também são diferentes em cada um dos modelos. MIWA *et al.* (1992b) obtiveram uma incidência de adenocarcinoma de 41% na mucosa pilórica em seu grupo A; KAMINISHI *et al.* (1992) não diagnosticaram essa lesão em seu grupo 1; RODRIGUES (2000), diagnosticou 6,25% ao nível da anastomose em seu grupo II. OVREBO *et al.* (2002), obtiveram nos animais do grupo III (refluxo através do piloro), 12 % com 24 semanas e 33% após 52 semanas. LIU *et al.* (2003), não obtiveram neoplasia com período de observação de três semanas. Neste estudo obteve-se 12% de adenocarcinoma ao nível da anastomose após 36 semanas no animais do grupo III (RDG-P).

Em termos de lesões proliferativas adenomatosas, MIWA *et al.* (1992b) obtiveram uma incidência de 59% na mucosa pilórica e de 29% na região da anastomose; KAMINISHI *et al.* (1992) não obtiveram lesões proliferativas adenomatosas em seu grupo 1; RODRIGUES (2000), obteve no grupo II a incidência na região da anastomose de 43,75% e de 68,75% na mucosa pilórica. Neste estudo, obteve-se no grupo III (RDG-P) 40% de lesões do tipo adenomatosas ao nível da mucosa pré-pilórica e 72% ao nível da anastomose. Os trabalhos de OVREBO *et al.* (2002) e LIU *et al.* (2003) não fazem referência a esta lesão.

A seguir, a *tabela 15*, relaciona alguns dos trabalhos da literatura que utilizam modelos experimentais de refluxo, através do piloro semelhante ao empregado nesta pesquisa, no que se refere à metodologia empregada (M), tempo de seguimento (T), à incidência de adenocarcinoma (AC) e à Hiperplasia Adenomatosa (HA).

**Tabela 15** - Comparação entre estudos semelhantes quanto à metodologia (M), tempo de seguimento (T), presença de **Adenocarcinoma (AC)** e **Hiperplasia Adenomatosa (HA)** na mucosa Pré-pilórica (pré-pil) ou na anastomose (Ana)

|                                   | (M)              | (T)<br>(semanas) | (AC)<br>(%) |       | (HA)<br>(%) |       |
|-----------------------------------|------------------|------------------|-------------|-------|-------------|-------|
|                                   |                  |                  | (Pré-pil)   | (Ana) | (Pré-pil)   | (Ana) |
| KAMINISHI <i>et al.</i><br>(1992) | Curvatura maior  | 30               | 0           | 0     | 0           | 0     |
|                                   | Parede anterior  |                  |             |       |             |       |
| MIWA <i>et al.</i> (1992b)        | Curvatura maior  | 50               | 41          | 0     | 59          | 29    |
|                                   | Parede anterior  |                  |             |       |             |       |
| RODRIGUES (2000)                  | Curvatura menor  | 54               | 0           | 6,25  | 68,75       | 43,75 |
|                                   | Parede anterior  |                  |             |       |             |       |
| OVREBO <i>et al.</i> (2002)       | —                | 24               | 0           | 12    | —           | —     |
| OVREBO <i>et al.</i> (2002)       | —                | 52               | 0           | 33    | —           | —     |
| LIU <i>et al.</i> (2003)          | —                | 3                | 0           | 0     | 0           | 0     |
| MONTEIRO (2004)                   | Curvatura maior  | 36               | 0           | 12    | 40          | 72    |
|                                   | Parede posterior |                  |             |       |             |       |

As diferenças observadas entre o trabalho de KAMINISHI *et al.* (1992), e os demais citados, poderiam ser explicadas pelo reduzido tempo de seguimento de 30 semanas; porém quando comparado com o presente estudo observa-se que o tempo de seguimento foi semelhante (30 e 36 semanas respectivamente), diferindo, apenas no local da realização da anastomose; no entanto quando se avalia o trabalho de OVREBO *et al.* (2002), em que os animais foram observados durante 24, 36 e 52 semanas, já com 24 semanas observa-se 12% de lesões denominadas “neoplasias”, não fazendo referência à hiperplasia adenomatosa ou a adenocarcinoma, sugerindo talvez critérios histopatológicos diferentes dos demais.

Os resultados do presente estudo são semelhantes aos observados no trabalho de MIWA *et al.* (1992b), e RODRIGUES (2000), quanto à incidência de lesões proliferativas adenomatosas, porém no que se refere ao tempo de seguimento, observa-se no nesse estudo um tempo de seguimento de 36 semanas, e respectivamente 50 e 54 semanas nos outros trabalhos.

No que se refere à incidência e localização do adenocarcinoma, o presente trabalho assemelha-se ao estudo de RODRIGUES (2000), que obteve baixa incidência desta lesão e com localização ao nível da anastomose, porém com período de observação maior que no presente estudo.

Estas divergências com os demais estudos podem ser atribuídas às diferenças na interpretação histológica das lesões, à utilização de técnicas cirúrgicas diferentes, como o posicionamento da gastrojejunoanastomose ou ainda por uma possível susceptibilidade heterogênea dos ratos de linhagem WISTAR à indução neoplásica. De qualquer modo, avaliando-se os trabalhos fica demonstrado que o refluxo das secreções do conteúdo duodenal leva ao desenvolvimento de lesões proliferativas predominantemente benignas, como a hiperplasia adenomatosa e em menor proporção às malignas, como o adenocarcinoma.

#### **4.7 - Refluxo duodeno-gástrico e carcinogênese**

Embora os modelos experimentais associem o refluxo duodenal, pancreático, esofágico e também colônico com o desenvolvimento de carcinomas gástricos, uma elucidação mais clara de como isso ocorre ainda não foi descrita MIRVISH, (1997). Alguns autores como MASON (1986) e MIWA *et al.* (1992a), tentaram averiguar qual o componente das secreções do conteúdo duodenal seria o responsável pelo desenvolvimento de neoplasias gástricas em ratos. Utilizando-se procedimentos cirúrgicos, que seletivamente, colocavam em contato a secreção biliar, a pancreatoduodenal ou ambas, simultaneamente, com a mucosa gástrica de ratos, esses autores chegaram a conclusões opostas. MASON (1986), conclui que o componente pancreatoduodenal seria o responsável pelo desenvolvimento de neoplasias em 71% dos ratos, enquanto que com a secreção biliar isolada não diagnosticou o adenocarcinoma. MIWA *et al.* (1992 a), obtiveram uma incidência de 25% com a secreção biliar isolada e de zero com a secreção pancreatoduodenal. A mistura das duas secreções propiciou o desenvolvimento do adenocarcinoma em 38% dos animais de MIWA *et al.* (1992 a), e em 58% dos de MASON (1986). Embora em se tratando de outro órgão, é válido mencionar que PERA *et al.* (1993),

concluíram que somente com a exposição à secreção pancreatoduodenal ou biliopancreática obtiveram o desenvolvimento de carcinomas esofágicos em ratos tratados com 2,6 dimetilnitrosomorfolina (40mg/kg). A exposição à secreção biliar isolada não levou ao desenvolvimento de carcinomas.

Alguns estudos experimentais demonstraram os efeitos das secreções biliar e pancreática no crescimento do epitélio intestinal (ALTMANN e LEEBLOND, 1970; HOSOMI *et al.* 1987). Fatores de crescimento, tais como o fator de crescimento epidérmico, foram identificados na mucosa duodenal e no suco pancreático de ratos (FUKUOKA *et al.* 1986; JAWOREK e KONTUREK, 1990). O fator de crescimento epidérmico é capaz de estimular a atividade da ornitina-dexacarboxilase, enzima considerada como um marcador da proliferação celular na mucosa do trato gastrointestinal e no pâncreas. Essa enzima cataliza a biossíntese de poliaminas, e putrescina PEGG e McCANN, (1982). Essas substâncias estão presentes nas células de todos os tecidos do corpo e têm importante papel no crescimento da mucosa do tubo digestório e tecido pancreático, especialmente no período neonatal e após estimulação hormonal. Sabe-se que um estado proliferativo aumentado é um dos pré-requisitos para o desenvolvimento neoplásico. DOWLING *et al.* (1985).

A ação detergente dos sais biliares também pode estar relacionada ao processo de carcinogênese. Ela é essencial para a absorção de gorduras no intestino delgado e esta ação não lesa a mucosa neste local. No entanto, quando aplicada sobre o epitélio colônico e esofágico, ela pode levar à inflamação e promover a carcinogênese MIRVISH, (1997). Particularmente sobre a mucosa gástrica, essa ação leva à atrofia do revestimento mucoso, facilitando a penetração de carcinógenos através da barreira mucosa e conseqüentemente a sua atuação junto ao compartimento proliferativo da mucosa MIWA *et al.* (1994). Adicionalmente, existe a possibilidade dos sais biliares reagirem com o nitrito e formar nitrosaminas carcinogênicas, como o ácido N-nitrosoglicólico. Essas substâncias são carcinogênicas para o fígado e, provavelmente para o estômago de ratos (BUSBY *et al.* 1985; MIRVISH, 1997). Estudos clínicos também associam a secreção biliar ao desenvolvimento do câncer gástrico. ANDREICA *et al.* (1987) analisando o suco gástrico, descobriram que a frequência do refluxo biliar era mais elevada em pacientes com câncer em relação aos controles.

THOMAS *et al.* (1984), relataram que o grau do refluxo biliar medido através de cintilografia, está relacionado com a intensidade da displasia gástrica. YASUI *et al.* (1993), verificaram que o refluxo duodeno-gástrico primário é mais prevalente em pacientes com carcinoma gástrico incipiente que em voluntários normais. No entanto, esses estudos não podem ser considerados como a palavra final na relação entre o refluxo duodeno-gástrico e câncer gástrico. GIRELLI *et al.* (1996), analisando os métodos de detecção do mencionado refluxo, observaram que a maioria desses métodos resulta em medidas imprecisas, seja devido à característica intermitente do refluxo, seja por falhas intrínsecas da metodologia empregada.

MIWA *et al.* (1994), referem que a carcinogênese gástrica, sem a utilização de carcinógenos, não pode ser totalmente explicada somente com a atividade promotora dos ácidos biliares e suas propriedades detergentes. Esses autores acreditam que alguma substância carcinogênica deva ser formada em algum estágio do processo de desenvolvimento de neoplasias gástricas mediadas pelo refluxo das secreções duodenais. A teoria de CORREA *et al.* (1975), da formação intragástrica de compostos nitrosos, poderia encaixar-se perfeitamente neste modelo. No entanto, esta teoria pressupõe que bactérias passariam a colonizar o estômago hipoclorídrico e converteriam o nitrato em nitrito e, posteriormente, o nitrito combinando-se com aminas e amidas formaria os compostos N - nitrosos, carcinogênicos para a mucosa gástrica (HAWKSWORTH e HILL, 1971; CORREA, 1992). Os achados de MIWA *et al.* (1992 b), em ratos não submetidos a procedimento cirúrgico, com refluxo duodeno-gástrico através do piloro não permitem a aplicação da teoria de CORREA *et al.* (1975), uma vez que observaram que em valores de pH menores que 4,0, não ocorre a colonização e a conseqüente atividade de bactérias redutoras do nitrato no estômago HILL, (1985). Portanto, os mecanismos intrínsecos do processo de carcinogênese gástrica, através do refluxo duodeno-gástrico, ainda estão para serem elucidados.

O presente estudo demonstrou que o refluxo das secreções do conteúdo duodenal atua como agente promotor, levando ao desenvolvimento de lesões proliferativas benignas, como a hiperplasia adenomatosa. Outros estudos realizados anteriormente em nosso meio e no exterior confirmam os mesmos resultados deste trabalho sobre as

características promocionais do refluxo duodeno-gástrico sobre a mucosa gástrica de ratos. (KOBAYASI *et al.* 1991; SAAD, 1993; RODRIGUES 1995 b e 2000; OVREBO *et al.* 2002).

Recentemente LIU *et al.* (2003) demonstraram que mesmo em curtos períodos onde a mucosa gástrica exponha-se ao refluxo duodeno-gástrico, pode-se observar a presença de danos celulares, como a hiperplasia.

A pesquisa na área de carcinogênese gástrica experimental vem obtendo avanços notáveis e, recentemente, WATANABE *et al.* (1998) conseguiram desenvolver um novo modelo experimental com a obtenção de carcinomas gástricos em roedores, apenas com infecção com cepas do *Helicobacter pylori*, abrindo uma nova perspectiva para pesquisas futuras. Os estudos no campo da Biologia Molecular, certamente, contribuirão para a elucidação do complexo processo de transformação neoplásica.

## ***5 - CONCLUSÕES***

- 1- O refluxo duodeno-gástrico induz a alta frequência de lesões proliferativas na mucosa adjacente à anastomose gastrojejunal ou na mucosa pré-pilórica.
- 2- Os carcinomas são raros no modelo experimental proposto nesta pesquisa

## ***6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

ALTMANN, G.G.; LEEBLOND, C.P. factors influencing vilus size in the small intestine of adult rats as revealed by transposition of intestinal segments. **Am J Anat**, 127: 15-36, 1970.

ANDREICA, V.; DUMITRASCU, D.; SUCIU, A.; SENDREA, D.; ERDOSY, S.; DRAGHICI, A. Contributions study of gastric carcinogenesis. **Med Intern**, 25: 15-24, 1987.

ANDREOLLO, N. A. **Contribuição à etiopatogenia do câncer do coto gástrico.** São Paulo, 1994. (Tese Livre Docência - Faculdade Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP).

ATTWOOD, S.E.A.; SMYRK, T.C.; DE MEESTER, T.R.; MIRVISH, S.S.; STEIN, H.J.; HINDER, R. A. Duodeno-esophageal reflux and development of esophageal adenocarcinoma in rats. **Surgery**, 111: 503-10, 1992.

BABA, T.; MISU, Y.; TAKAYAMA, S. Induction of cancer of the glandular stomach in A rat: A new form of experiment. **Gann**, 53: 381-7, 1962.

BEACHI, P.; AMOROSI, A.; MAZZANTI, R.; ROMAGNOLI, P.; TONELLI, L. Gastric histology and fasting bile reflux after partial gastrectomy. **Gastroenterology**, 93: 335-43, 1987.

BOECKL, O. ; LILL, H. Uber das Magenstumpfcarcinom. **Munchener Med Wochensch** 105: 615-8, 1963.

BONNE, C. Z.F.K. 25: 1-22, 1927 apud RUSH, H.P.; BAUMANN, C.A.; MASON, G.L. 8-19, 1929.

BULLOCK, F. D. ; CURTIS, M. R. Spontaneous tumors of the rat. **Cancer Res**, 14: 1-8, 1930.

BUSBY JR, W .F.; SHUKER, D. E. G.; CHARNLEY, G.; NEWBERNE, P. M.; TANNERBAUM, S.R.; WOGAN, G.N. carcinogenicity in rats of the nitrosated bile acid Conjugates N- Nitrosoglycocholic acid and N- Nitrosotaurocholic acid. **Cancer Res**, 45:1637-1371, 1985.

BYRNE, J. P.; ATTWOOD, S. E. A. Duodenogastric reflux and cancer. **Hepato-gastroenterology** , 46: 74-85, 1999.

CAYAGILL, C.P.J. HILL, M. J.; HALL, C. N. ; KIRKHAN, J. S.; NORTHFIELD, T. C. Mortality from gastric cancer following gastric Surgery for peptic ulcer. **Lancet**, 1: 929-31, 1986.

CHELI, R.; GIACOSA, A.; MOLINARI, F. Chronic gastritis and duodenogastric reflux. **Scand J Gastroenterol Suppl**, 67: 125-7, 1981.

CLARK, G.N.; SMYRK, T.C.; MIRVISH, S. S.; ANSELMINO, M.; YAMASHITA, Y.; HINDER, R. A.; DE MEESTER, T. R.; BIRT, D. F. Effect of gastroduodenal juice and Dietary fat on the development of Barrett's esophagus and esophageal neoplásica: an Experimental rat model. **Am Surg Oncol**, 1: 252-61, 1994.

COMISSÃO DE NORMATIZAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DE REFERÊNCIAS E CITAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS. **Avaliação da documentação no Brasil- NBR 6023** (Associação Brasileira de Normas técnicas (ABNT), Biblioteca Central da UNICAMP Rio de janeiro, 2000.

CORREA , P.; HAENZEL, W.; CUELLO, C.; TANNENBAUM, S. ; ARCHER, M. A. Model for gastric câncer epidemiology. **Lancet**, 11: 58-60, 1975.

CORREA, P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. **Cancer Res**, 52: 6735-40, 1992.

DAHM, K.; WERNER, B. Experimentelles anastomogencarcinon EIN Beitrag zur Pathogenese des managenstumpf carcinoms. **Langenbecks Arch Chir**, 333: 211-36, 1973.

DELANEY, J.P.; BRODIE, T.A.; ROBBINS, P.L. Pyloric reflux Gastritis: The offending agent. **Surgery**, 77: 764-72, 1975.

DOMELLÖF, L.; JANUNGER, K. G. The risk for gastric carcinoma after partial gastrectomy. **Am. J. Surg**, 134: 581-4, 1977.

DOWLING, R.H.; HOSOMI, H.; STACE, N.H. Hormones and polyamines in intestinal and pancreatic adaptation. **Scand J Gastroenterol**, 20 (112): 84-95, 1985.

EBERLLEIN, T. J.; LORENZO, F.V. ; WEBSTER, M. W. Gastric Carcinoma for peptic ulcer disease. **Ann Surg** , 187: 251-6, 1978.

EHRNSTRÖM, R.; LINDSTRÖM, C.G.; ARVIDSSON, S.; STERNBY, N.H.; NILSSON, E.; EHRNSTRÖM, Y.M. An experimental study of gastric stump carcinoma in Wistar rats. **APMIS**, 103: 878-84, 1995.

FAZI, M. ; BECHI, P.; NASPETI, R.; CADERNI, G.; BIACHINI, F.; AMOROSI, A.; DOLARA, P. gastric hyperplastic changes and thymidine uptake after partial gastrectomy in rats. **Hepato- Gastroenterology**, 38: 538-42, 1991.

FISHER, R. S.; COHEN, S. Pyloric sphincter dysfunction in patients with gastric ulcer. **N Engl J Med**, 137: 527-31, 1973.

FLEISS, J.L. **Statistical Methods for Rates and Proportions**. 2ª ed. John Wiley & Sons, New York, 1981.

FONSECA, J. S. ; MARTINS, G. A. **Curso de Estatística** . Ed Atlas S.A., 5ª ed., 1994.

FUKUOKA, S. I.; FUSHIKI, T.; KITAGA, Y. Growth stimulating activith on 3T3 Fibroblast of the molecular weigh 6500 - peptide purified from rat pancreatic juice. **Biochem Biophys Res Commum**, 139: 545-50, 1986.

FUKUSHIMA, S.; TATEMATSU, M.; TAKAHASHI, M. Combined effect of various Surfactants on gastric carcinogenesis in rats treated wih N - Methyl - N'- Nitro- N- Nitrosoguanidine. **Gann**, 65: 371-6, 1974.

GIACOSA, A.; BOCCHINI, R.; MOLINARI, F. Reflux esophagitis and duodenogastric reflux. **Scand. J. Gastroenterol**, 16: 115-7 1981.

GIRELLI, C.M.; CUVELLO, P.; LIMIDO, E.; ROCCA, F. Duodenogastric reflux na update. **Am J Gastroenterol**, 91: 648-53, 1996.

- GOODMAN, D. G.; WARD, J. M.; SQUIRE, R. A. ; CHU, K. C. ; LINHART, M. S. Neoplastic and non- neoplastic lesions in aging F 344 rats. **Toxicol. Appl. Pharm**, 48: 237-9, 1979.
- GOWEN, G. F. Spontaneous enterogastric reflux gastritis and esophagitis. **Ann Surg**, 201:170-5, 1985.
- HAWKSWORTH, G. M.; HILL, M. J. Bacteria and N-Nitrosation of secondary amines. **Br J Cancer**, 25: 520-6, 1971.
- HEADING, R.C. Duodenogastric reflux. **Gut**, 24: 507-9, 1983.
- HILL, M. Normal and pathological microbial flora of the upper gastrointestinal tract. **Scand J Gastroenterol Suppl**, 111: 1-5, 1985.
- HILBE, G. SALZER, G. H.; HUSS, L. H.; KUTSCHERA, H. Die carcinomgefarung des Resktionsmagens. **Langenbecks Arch. Fur Klin.Chir**, 323: 142-53, 1968.
- HOSOMI, S.; STACE,N. H.; LIRUSSI, F. Role of polyamines in intestinal adaptation in the rat. **Eur J Clin Invest**, 17:375-85, 1987.
- HOUGHTON, P. W. J.; MORTENSEN, N. J. M.; WILLIAMSON, R.C.N. Effect of duodenogastric reflux on gastric mucosal proliferation after gastric surgery. **Br J Surg**, 74:288-91, 1987.
- HOUGHTON, P. W. J.; LIEPINS, P.; CLERKE, S.M.; MASON, R.C. Effect of gastric Emptying in the rat. **Br J Surg**, 81: 75-80, 1994.
- HULLEY, S. B.; CUMMINGS, S.R. **Designing Clinical Research** Baltimore: Willians & Wilkins, 220 p, 1988.
- IMAI, T.; KOBAYASI, S.; RODRIGUES, M. A. M.; CAMARGO, J. L. V. ; OGAWA, K.; IWATA, H.; TATEMATSU, M. Reduction of cell proliferative activies of gastric stump Adenomatous hiperplasias after bile reflux diversion in rats. **Carcinogenesis**, 14: 1765-9, 1983.

JAWOREK, J.; KONTUREK, S. J. Distribution, release, and secretory activity of Epidermal growth factor in the pancreas. **Int J Pancreatol**, 6:189-204, 1990.

JEKEL, J. F.; ELMORE, J. G.; KATZ, L. D. **Epidemiology Biostatistics and preventive Medicine**. W.B. Saunders company, 1996.

KALIMA, W. Reflux gastritis unrelated to gastric surgery. **Scand. J. Gastroenterol Suppl**, 79: 66-71, 1982.

KAMINISHI, M. ; OOHARA, T. ; CHIU, M. L. ; AOKI, F.; YAMAGUCHI, H.; SHIMOYAMA, S. Severe gastric mucosal changes following vagotomy with duodenogastric reflux. **J Clin Gastroenterol**, 14(1): 515-24, 1992.

KAMINISHI, M.; SHIMIZU, N.; SHIOMAYAMA, S.; YAMAGUCHI, H.; OGAWA, T.; SAKAI, S.; KURAMOTO, S.; OOHARA, T. Etiology of gastric remnant cancer with special reference to the effects of denervation of the gastric mucosa. **Cancer Supplement**, 75: 1490-96, 1995.

KATSUYAMA, T.; SPICER, S.S. Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A- horse Peroxidase method. **J. histochem method. Cytochem**, 26: 233-50, 1978.

KLARFELD, J.; RESNICK, G. Gastric remnant carcinoma. **Cancer**, 44: 1129-33, 1979.

KOBAYASI, S. **Lesões da mucosa e carcinogênese do coto gástrico, em ratos. Influência do refluxo do conteúdo duodenal**. Botucatu, 1990. (Tese- Livre docência)- Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista .

KOBAYASI, S.; TATEMATSU, M.; OGAWA, K.; CAMARGO, J.L.V.; RODRIGUES, M. A. M.; ITO, N. Reversibility of adenomatous hyperplasia in the gastric stump after diversion of the bile reflux in rats. **Carcinogenesis**, 12: 1437-43, 1991.

KOBAYASI, S.; NARESSE, L. E.; LEITE, C. V. S. Câncer do coto gástrico. **Acta Cir Bras**, 8: 01-07, 1993.

- KOBAYASI, S.; RODRIGUES, M. A. M.; CAMARGO, J.L.V.; IMAI, T.; YUASA, H.; OGAWA, K.; TATEMATSU, M. Gastric and small intestinal lesion after partial stomach resection in the rat. **Cancer Letters**, 85: 73-82, 1994.
- KOBAYASI, S.; SAAD, L. H. C.; NARESSE, L. E.; LEITE, C. V. S.; RODRIGUES, M. A. M. OGAWA, K.; IWATA, H. TATEMATSU, M. Sequential analysis of mucosal lesions of the gastric stump in the rat. **Acta Cir Bras**, 9: 157- 62, 1994.
- KONDO. K.; SUZUKI, H.; NAKAYO, T. The influence of gastrojejunal anastomosis on Gastric carcinogenesis in rats. **Gann**, 75: 362-9, 1984.
- LANGHANS, P.; HEGER, R.A.; HOHENSTEIN, J.; BUNTE, H. Gastric stump carcinoma- new aspects deduced from experimental results. **Scand J Gastroent**, 16: 161-4, 1981a.
- LANGHANS, P.; HEGER, R. A.; HOHENSTEIN, J.; SCHLAKE, W.; BUNTE, H. Operation sequel carcinoma of the stomach experimental studies of surgical techniques with or without resection. **World J Surg** , 5: 595-605, 1981b.
- LANGHANS, P.; HEGER, R.A. ; STEGEMANN, B. The cancer risk in the stomach subjected to nonresecting procedures. **Scand J Gastroenterol Suppl**, 92, 138 - 141, 1984.
- LAWLEY, P. D. Methylation of Dna by n- Methyl- Nitrouretane and N- Methyl n- Nitrosoguanidine. **Nature**, 218: 580-1, 1968.
- LAWSON, H. H. The postoperative stomch as seen clinically and experimentally. **Scand J Gastroent**, 16: 157-60, 1981.
- LIU, J.X.; LIU, X.G.; DAI, Y.; TANG, X.Y.; LI, J.; WANG, H.H. An experimental study on gastric mucosal damage induced by duodenogastric reflux in rats. **Zhonghua Nei Ke Za Zhi**, 42(12): 837-9, 2003.
- LUNDEGARDH, G.; ADAMI, H.D., HELMICK, C.; ZACK, M.; MEIRIK, O. Stomach cancer after partial gastrectomy for benign ulcer disease. **N Engl J Med**, 319: 195-200, 1988.

MAEKAWA, A.; KUROKAWA, Y. TAQKAHASHI, M.; KOKUKO, T.; OGIU, T.; ONODERA, H.; TANIGAWA, H.; OHNO, Y.; FURUKAWA, F.; HAYASHI, Y. Spontaneous tumors in F 344/ du crj rats. **Gann**, 74: 365-8, 1983.

MAKINO, M. ; KAIBARA. N. ; KOGA, S. Enhanced induction by High cholesterol diet of remnant gastric carcinogenesis by N- methyl - N' Nitroso- N- Nitrosoguanidine in rats. **J Natl Cancer Inst**, 81: 130-5, 1989.

MASON, R. C. Duodenogastric reflux in rat gastric carcinoma. **Br J Surg**, 73: 801 - 3, 1986.

Mc CALLA, D. R. Reaction of N- Methyl N- Nitroso – p toluenesul- fonamide with DNA in vitro. **Biochim Acta**, 155: 114-20, 1968.

MENGUY, R.; MAX, M. Influence of bile on canine gastric antral mucosa. **Am J Surg**, 119: 177-82, 1970.

MIRVISH, S.S. The etiology of gastric cancer . Intragastic Nitrosamine and other theories. **J Natl Cancer Inst**, 71: 629-47, 1983.

MIRVISH, S.S. Studies on experiemental animals involving surgical procedures and / or nitrosamine treatment related to the etiology of esophageal adenocarcinoma. **Cancer Letters**, 117: 161-74, 1997.

MIWA, K.; FUGIMURA, T.; HASEGAWA, H.; KOSAKA, T.; MIYATA, R.; MIYASAKI I., HATTORI, T. Is bile or are pancreatoduodenal secretions related to gastric Carcinogenesis in rats with reflux trough the pylorus? **Cancer Res Clin Oncol**, 118: 570-74, 1992.

MIWA, K., HASEGAWA, H. ; FUGIMURA, T.; MATSUMOTO, H.; MITAYA, R.; KOSAKA, T.; MIYASAKI, I.; HATTORI, T. Duodenal reflux trough the pylorus induces gastric adenocarcinoma in the rat. **Carcinogenesis**,13: 2313-6, 1992.

- MIWA, K.; KAMATA, T.; MIYAZAKI, I.; HATTORI, T. Kinetic changes and experimental carcinogenesis after Billroth I and II gastrectomy. **Br J Surg**, 80: 893-6, 1993.
- MIWA, K.; HASEGAWA, M.; TAKANO, Y.; MATSUMOTO, H.; SAHARA, H.; YAGI, M.; MIYASAKI, I.; HATTORI, T. Induction of oesophageal and forestomach carcinomas in rats by reflux of duodenal contents. **Br J Cancer**, 70: 185-9, 1994.
- MIWA, K.; HATTORI, T.; MIYASAKI, I. Duodenogastric reflux and foregut Carcinogenesis. **Cancer Supplement**, 75: 1426-32, 1995.
- MIWA, K.; SAHARA, H.; SEGAWA, M.; KINAMI, S.; SATO, T.; MIYAZAKI, I.; HATTORI, T. Reflux of duodenal or gastro- duodenal contents induces esophageal Carcinoma in rats. **Int J Cancer**, 67: 269-74, 1996.
- MORGENSTERN, L. Vagotomy, gastroenterostomy and experimental gastric cancer. **Arch Surg**, 96: 920-3, 1968.
- MORGENSTERN, L.; YAMAKAWA, T.; SELTZSER, D. Carcinoma of the gastric sump. **Am J Surg**, 125: 29-38, 1973.
- NISHIDOI, H.; KOGA, S.; KAIBARA, N. Possible role of duodeno-gastric refluxo on the Development of remnant gastric carcinoma induced by MNNG in rats. **J Natl Cancer Inst**, 72: 1431-5, 1984.
- OFFERHAUS, G. J.A.; TERSMETTE, A.C.; HUIBREGTSE, K.; VAN DE STADT, J.; OHGAKI, H.; KAWACHI, T.; MATSUKURA, N.; MORINO, K.; MIYAMOTO, M.; SUGIMURA, T. Genetic control of susceptibility of rats to gastric carcinoma. **Cancer Res**, 43:3663-9, 1983.
- OHGAKI, H.; KAWACHI, T.; MATSUKURA, N.; MORINO, K.; MIYAMOTO, M.; SUGIMURA, T. Genetic control of susceptibility of rats to gastric carcinoma. **Cancer Res** 43: 3663-9, 1983.

OVREBO, K. K.; AASE, S.; GRONG, K.; VISTE, A.; SVANES, K.; SORBYE, H. Ulceration as a possible link between duodenogastric reflux and neoplasms in the stomach of rats. **J Surg Res**, 107 (2): 167-78, 2002.

PEGG, A.E.; McCANN, P. P. Polyamines metabolism and function. **Am J Physiol**, 243: 212-21, 1982.

PERA, M.; CARDESA, A.; BOMBI, J.A.; ERNST, H.; PERA, C.; MOHR, U. Influence of Esophagojejunostomy on the inunction of adenocarcinoma of the distal esophagus in Sprague-Danley rats by subcutaneous injection of 2,6 dimethylnitroso- morphine. **Cancer Res** , 46: 6803-6808, 1989.

PERA, M.; TRASTEK, V.F.; CARPENTER, H.A.; FERNANDEZ, P.L.; CARDESA, A.; MOHR, U.; PAIROLERO, P. C. Influence of pancreatic and biliary reflux on the development of esophageal carcinoma. **Ann Thorac Surg**, 55: 1386-93, 1993.

PERA, M.; GRANDE, L.; SELABERT, M.; FIGUEIRAS, X.; PERA, M.; PALACIN, H.; ELENA, M.; CARDESA, A.; TIBURCIO, A.; TRASTEK, V. Epithelial cell Hiperproliferation after biliopancreatic reflux into the esophagus of rats. **Ann Thorac Surg** 65: 779-86, 1998.

PITOT, H.C. The natural history of neoplastic development: the relation of experimental models to human cancer. **Cancer**, 49: 1206-11, 1982.

PITOT, H. C. Progression the terminal stage in carcinogenesis. **Jpn J Cancer Res**, 80: 559- 607, 1989.

PORTILLA, A. G.; HERVIAS, C. M. L.; FERNANDEZ, L. F.; HERREROS, A.T.; ESPLIGARES, J. L. P.; GUINDA, C.; ALBIACH, M. Estado actual de la carcinogenesis Gástrica experimental em la rata, sin la utilaction de carcinógenos exógenos. **Vex Esp Enf Digest**, 78: 222-4, 1990.

REES, W. D. W.; GO, V.L.M.; MALAGELADA, J. R. Simultaneous measurement of Antroduodenal motility, gastric emptying and duodenogastric reflux in man. **Gut**, 20: 963- 70, 1979.

RITCHIE, W.P. Alkaline reflux gastrics: a critical reappraisal. *Gut*, 25: 975- 87, 1984.

RODRIGUES, M. A. M. **Carcinogênese gástrica induzida pelo N- metil- nitro- Nitrosoguanidina (MNNG) no rato: Influência do refluxo biliopancreático sobre as lesões do estômago glandular e da anastomose gastrojejunal.** Botucatu, 1995 (Tese- Livre Docência- Faculdade de Medicina –Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP.)

RODRIGUES, P.A. **Prevenção das lesões proliferativas da mucosa do coto gástrico de ratos gastrectomizados à Billroth II, através de derivação em Y de ROUX com ou sem vagotomia.** Botucatu, 1995. (Dissertação de Mestrado-Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP).

RODRIGUES, P. A . **Lesões proliferativas gástricas induzidas pelo refluxo duodenal em ratos. Estudo anatomopatológico e morfométrico.** São Paulo, 2000. (Tese Doutorado Faculdade de Ciências Médicas de Botucatu- Universidade Estadual Paulista ).

RUMPF, P.; SCHACHT, V. ; PALOMBA, P. ; KREMER, K.; SCHMITZ, H.; BORCHARD, F. Chenish induzierte Karzinogenese des Rattenmagens nach vagotomie und Resektion. *Z Gastroenterol*, 16: 85-94, 1978.

RUSH, H. P.; BAUMANN, C. A.; MAISON, G. L. Production of internal tumors with chemical carcinogens. *Arch Pathol*, 29: 18-9, 1940.

SAAD, L.H.C. **Lesões da mucosa do coto gástrico após reconstrução a Billroth II e em Y de ROUX, em ratos.** Botucatu, 1993 ( Dissertação de Mestrado- Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP).

SAITO, T.; INOKUCHI, K.; TAKAYAMA, S.; SUGIMURA, T. Sequential morphological Changes in N-methyl-N´nitro-N-nitrosoguanidine carcinogenesis in the glandular stomach of rats. *J.Natl Cancer Inst*, 44: 769- 83, 1970.

- SALMON, R.J.; DESCHENER, E.E.; OKAMURA, T.; DE COSSE, J.J.; SHERLOCK, P. Cancer induction after pyloroplasty in rats. Treatment with MNNG. **Arch Surg**, 117: 768-71, 1982
- SALMON, R. J.; MERLE, S.; ZAFRANI, B.; DE COSSE, J. J.; SHERLOCK, P. ; DESCHNER, E. E. Gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: role of gastrectomy and duodenal reflux. **Jpn J Cancer Res**, 76: 167-72, 1985.
- SAS INSTITUTE INC. **The SAS system for Windows (Statistical Analysis System)** versão 8.02 Cary, NC, USA, 1999-2001.
- SAVAGE, A.; JONES, S. Histological appearances of the gastric mucosa 15-27 years after partial gastrectomy. **J Clin Pathology**, 32: 179-86, 1979.
- SCHLAG, P.; MEISTER, H.; FEYERRABEN, G.; MERKLE, P. Der einfluss des Duodenogastrischen refluxes auf das epithel na der gastroenteralen anastomose. **Langenbecks Arch Chir**, 344: 207-17, 1977.
- SCHLAKE, W.; NOMURA, K. histogenesis of carcinoma in the glandular stomach of the rat after BI resection. **Curr Top Pathol**, 67: 1-67, 1979.
- SCHMITZ, M.G.J.; RENOOIJ, W. Phospholipids from rat, human, and canine gastric mucosa. **Gastroenterology**, 99: 1292-6, 1990.
- SCHOENTAL, R. Carcinogenic activity of N-Methyl \_ N' Nitro- N- Nitrosoguanidine. **Nature**, 209: 726-7, 1963.
- SETO, Y.; KOBORI, O.; SHIMIZU, E.; MORKOWA, Y. The role of alkaline reflux in esophageal carcinogenesis induced by N-Amyl-N-Methylnitrosamine in rats. **Int J Cancer**, 49: 758-63, 1991.
- SHOENTAL, R. Induction of tumors of the stomach in rats and mice by N- Nitroso-Alkyluretanes. **Nature**, 199: 190, 1963.

- SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica para as Ciências do Comportamento**. São Paulo: McGraw-Hill, 1975, p 123-4.
- SOBALA, G. M.; O'CONNOR, H. J. ; DEWAR, E. P. ; KING, R. F. G.; AXON, A.T.R.; DIXON, N. F. Bile reflux and intestinal metaplasia in gastric mucosa. **J Clin Pathol**, 46: 235-40, 1993.
- STERN, A.I.; HOGAN, D.L.; ISENBERG, J. I. Effect of sodium taurochocolate on the human gastric mucosa at acid neutral pHs. **Gastroenterology**, 87: 1272-6, 1984.
- STEWART, H.L.; LORENZ, E. Morbid anatomy, histopathology and histogenesis of Forestomach carcinoma in mice fed carcinogenic hydrocarbons in oil emulsion. **J Natl Cancer Inst**, 9: 147- 66, 1949.
- STEWART, H.L.; SNELL, K.C.; MORRIS, H. P. WAGNER, M.; RAY, F. E. Carcinoma of the glandular stomach of rats ingesting N-N'-2, 7 Fluorenylenebisacetamide. **J Natl Cancer Inst**, 5: 105-39, 1961.
- SOMASUDARAM, K.; GANGULY, A. K. Effect of vagal stimulation on gastric mucosal Barrier in albino rats. **Arq Gastroenterol**, 24: 75-9, 1987.
- SUGIMURA, T. ; FUJIMURA, S. Tumor production in glandular stomach of rat by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. **Nature**, 216: 943-7, 1967.
- SZENTIRMAY, Z.; SUGAR, J. Tumors of the rat. In: TURUSOV, U. S. (Ed.) **Monographs on Pathology of laboratory animals**, Lyon I: 101, 1979.
- SZENTLÉLEKI, K.; MORVAY, K.; PINTÉR, A.; BÖRZSÖNY, M.; NAGY, L.; JUHÁSZ, F. ; SÓLYOM, C. The extent of bile reflux and development of gastric cancer after resections in rat. **Acta Chir. Hung**, 31: 339-46, 1990.
- TATEMATSU, M.;YAMAMOTO, M.; IWATA, H.; FUKAMI, H.; YUASA, H.; TEZUKA TEZUKA, N.; MASSUI, T.; NAKANISHI, H. Induction of glandular stomach cancer in CBH mice treated with N- Methyl- N- Nitrourea in the drinking water. **Jpn J Cancer Res** 84: 1258-64, 1993.

- TAYLOR, P. R.; MASON, R.C.; FILIPE, M. I.; VAJA, S.; HANLEY, D. D.; MURPHY, G. M.; DOWLING, R. H.; McCOLL, I. Gastric carcinogenesis in the rat, induced by duodenogastric reflux without carcinogenesis: morphology, mucin histochemistry, polyamine metabolism and labelling index. *Gut*, 32: 1447-554, 1991.
- TERSMETTE, K. W.F.; STIJNEN, T. H.; HOEDEMAECKER, J.; VANDERBROUCKE, J. P.; TYTGAT, G. N. Mortality caused by stomach cancer after remote partial gastrectomy for benign conditions: 40 years of follow-up of an Amsterdam cohort of 2633 postgastrectomy patients. *Gut*, 29: 1588-90, 1988.
- TERSMETTE, A. C.; GIARDIELLO, F. M.; OFFERHAUS, G. A.; TERMETTE, K.W. F.; OHARA, K.; VANDENBROUCKE, J.P.; TYGAT, G.N.J. Geographical variance in the risk of gastric stump cancer: no increased risk in Japan? *Jpn J Cancer Res*, 82: 266-72, 1991.
- THEURING, F.; DITTRICH, S.; WOLTER, F.H. On the varying degrees of cancerogenicity of modified gastroentero-anastomoses. *Exp Path*, 27: 179-84, 1985.
- THOMAS, W. E. G.; COOPER, M.J.; MORTENSEN, N.J.; BURTON, P. A.; DAVIES, E. R. The clinical assessment of duodenogastric reflux by scintigraphy and its relation to histological changes in gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 92: 195-9, 1984.
- TOFTGAARD, C. gastric cancer after peptic ulcer surgery: a historic prospective cohort investigation. *Ann Surg*, 210: 159-64, 1989.
- VISTE, A.; OPHEIM, P.; THUNOLD, J. Risk of carcinoma following gastric operations for benign disease. *Lancet*, 2: 929-30, 1986.
- VORONOFF, S.; ALEXANDRESCU, G. Tumeurs abdominales multiples chez le rat blanc expérimentalement produites par l'ingestion longtemps répétée d'un mélange à base de Boudron. *Neoplasmes*, 8: 129-81, 1929.
- WARSHAW, A. L. Bile gastritis without prior gastric surgery contributing role of cholecystectomy. *Am J Surg*, 137: 527-31, 1979.

WATANABE, T.; TADA, M.; NAGAI, H.; SASAKI, S.; NAKAO, M. Helicobacter Pylori infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. **Gastroenterology** ,115: 642-8, 1998.

WILLIAMSON, R.N.C. ; RAINEY, J.B. Relationship between intestinal hyperplasia and carcinogenesis. **Scand J. Gastroenterol**, 104: 57-60, 1984.

WILLIAMSON, R. N. C. ; STEIN, H. J.; DEMEESTER, T.R.; BREMNER, R.M.; NIMURA, Y. An alkaline stomach is common to Barrett 's esophagus and gastric carcinoma. In: NABEYA, K.; HANAOKA, T.; NOGAMI, H. (Eds.). Recent advances in disease of the esophagus. Tokyo: **Springer- Verlag**, 169-72, 1993.

YASUI, A.;HOEFT, S.F.; STEIN, H.J.;DEMEESTER, T.R.;BREMNER, R.M.; NIMURA, Y. An alkaline stomach is common to Barrett's esophagus and gastric carcinoma. IN In: NABEYA, K.; HANAOKA, T.; NOGAMI, H. (Eds.). Recent Advances in Disease of the Esophagus. Tokyo: **Springer-Verlag**, 169-72, 1993.

***7 - APÊNDICES***

## Composição da Ração Utilizada

**NUVILARBR- Código de produto 6003**

**Composição Básica do produto:** Carbonato de cálcio, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico, milho integral moído, cloreto de sódio, premix vitamínico mineral aminoácido, farinha de peixe, farinha de carne.

**Eventuais substitutivos:** Farelo de alfafa, farelo de arroz, farelo de girassol, farelo de milho, farinha de conchas de ostras tipo 1, farinha de penas hidrolisadas, farinha de sangue, soro de leite em pó, cevada, gordura animal estabilizada, solúveis de pescado dessecados.

### Níveis de garantia por quilograma de produto:

|                            |        |
|----------------------------|--------|
| Cálcio (Máx).....          | 1,40%  |
| Extrato etéreo (min.)..... | 3,00%  |
| Fósforo (min.).....        | 0,60%  |
| Matéria fibrosa (máx)..... | 9,00%  |
| Matéria mineral (máx)..... | 10,00% |
| Proteína bruta (Mín).....  | 22,00% |
| Umidade (máx).....         | 12,50% |

### Enriquecimento por quilograma do produto:

**Vitaminas:** Vitamina A 25.200 UI; Vitamina D 2.100 UI; Vitamina E 60,00 mg; vitamina K 12,50 mg; Vitamina B1 14,40 mg; Vitamina B2 11,00 mg; Vitamina B6 12,00 mg; Vitamina B12 6,00 mcg; ácido nicotínico 52,50 mg; Ácido pantotênico 112,00 mg; Ácido fólico 6,00; Biotina 0,26mg; colina 100 mg.

**Microelementos Minerais:** Ferro 50 mg; zinco 60 mg; cobre 10,00 mg; iodo 2 mg; Manganês 60,00 mg; Selênio 0,05mg; Cobalto 1,50 mg.

**Aminoácidos:** Metionina 3000,00 mg; Lisina 100,00 mg.

**Conservação:** Conservar em ambiente seco e arejado, evitando-se luz e calor excessivos.

**Rótulo registrado no Ministério da Agricultura e Reforma Agrária sob nº 4453.00118.**

## Preparo da Formalina Tamponada 10%

|                                  |        |
|----------------------------------|--------|
| Formol.....                      | 100 ml |
| Água destilada.....              | 900 ml |
| Fosfato de sódio monobásico..... | 4 g    |
| Fosfato de sódio dibásico.....   | 6,5%   |

Misturar tudo em um béquer, mexendo com espátula de vidro até total homogeneização. O nível do pH deverá encontrar-se a 10%. A correção do pH para acidificar é realizada acrescentando-se HCl ou NaOH para alcalinizar-se a solução.

## Cálculo no nº de animais por grupo (n)

### Tamanho Amostral para Proporção (Estudo Descritivo-variável Qualitativa)

Fixar:

P= proporção de indivíduos com a característica de interesse na população

D=diferença desejada entre proporção amostral e proporção populacional (erro amostral)

Alfa= nível de significância (bilateral)

|      |       |
|------|-------|
| P    | 0,531 |
| D    | 0,200 |
| Alfa | 0,05  |

|          |           |
|----------|-----------|
| <b>n</b> | <b>24</b> |
|----------|-----------|

HULLEY e CUMMINGS, (1988).

Departamento de Estatística – Comissão de Pesquisa FCM-UNICAMP

## Lesões Macroscópicas

### Grupo II – Refluxo duodeno-gástrico (RDG)

**Tabela 16** - Descrição das lesões macroscópicas encontradas em cada animal do grupo II (RDG)

\* peso do animal antes da laparotomia

+ peso do animal no sacrifício

| ANIMAL<br>peso (gr)  | ESTÔMAGO<br>(cm)                         | ANASTOMOSE  | PRÉ-PILÓRICA              | ESCAMOSA |
|----------------------|--|---|---------------------------|----------|
| R1<br>* 238<br>+ 480 | 5,0 X 5,8                                | tecido vinhoso<br>2,0 cm                            | dilatado<br>1,0 cm        | normal   |
| R2<br>*251<br>+391   | 5, 0 x 4,5<br><br>alça aferente<br>4 cm  | tecido vinhoso<br>1,5 cm                            | dilatado<br>1,3 cm        | dilatada |
| R3<br>* 230<br>+ 492 | 3,0 x 4,5 x                              | sem lesão   | dilatado 1 cm             | normal   |
| R4<br>* 260<br>+ 468 | 3,5 x 3,5                                | sem lesão   | dilatado 1 cm             | normal   |
| R5<br>*233<br>+371   | 5,0 x 5,0<br><br>alça aferente<br>4 cm   | sem lesão   | dilatado 2 cm             | dilatada |
| R6<br>* 244<br>+ 409 | 5,0 x 4,7<br><br>alça aferente<br>3,8 cm | lesão vegetante<br>e ulcerada<br>1,5 x 1 cm x 0,8cm | tecido endurecido<br>1 cm | dilatada |
| R7<br>* 260<br>+ 469 | 4,0 x 4,0                                | 2 lesões vegetantes<br>1,0 x 0,6<br>0,5 x 0,4       | dilatado<br>1 cm          | normal   |

| ANIMAL<br>peso (gr)   | ESTÔMAGO<br>(cm) | ANASTOMOSE  | PRÉ-PILÓRICA     | ESCAMOSA |
|-----------------------|------------------|---|------------------|----------|
| R8<br>* 266<br>+ 492  | 3,5 x 4,5        | 2 lesões vegetantes<br>0,7 X 0,5 X 0,3<br>1,3 X 0,8 X 0,8 | normal           | normal   |
| R9<br>* 257<br>+ 491  | 3,0 x 3,5        | normal  | normal<br>0,7 cm | normal   |
| R10<br>* 228<br>+ 395 | 3,0 x 3,2        | normal  | normal<br>0,8 cm | normal   |
| R11<br>*254<br>+ 435  | 4,0 x 3,5        | normal  | normal<br>0,8 cm | normal   |
| R12<br>*229<br>+ 417  | 4,0 x 3,5        | normal  | dilatado<br>1,2  | normal   |
| R13<br>* 262<br>+ 423 | 2,8 x 4,0        | normal  | normal<br>0,8    | normal   |
| R14<br>* 260<br>+ 457 | 4,0 x 4,0        | normal  | dilatado<br>1,2  | normal   |
| R15<br>* 234<br>+ 410 | 4,5 x 4,0        | 2 lesões polipóides<br>0,5 x 0,7 x 0,3<br>1,0 x 0,5 x 0,5 | normal           | normal   |
| R16<br>* 215<br>+ 410 | 4,0 X 4,0        | lesão nodular<br>2,0 x 1,0 x 0,4                          | normal           | normal   |

| ANIMAL<br>peso (gr)   | ESTÔMAGO<br>(cm) | ANASTOMOSE                   | PRÉ-PILÓRICA | ESCAMOSA  |
|-----------------------|------------------|------------------------------|--------------|-----------|
| R17<br>* 240<br>+ 435 | 4,5 x 5,0        | normal                       | normal       | normal    |
| R18<br>* 244<br>+ 405 | 5,5 x 5,0        | lesão vegetante<br>0,5 x 0,7 | normal       | espessada |
| R19<br>* 215<br>+ 400 | 5,0 x 4,5        | espessada                    | normal       | normal    |
| R20<br>* 230<br>+ 420 | 4,5 x 3,8        | lesão ulcerada<br>1,0 x 0,5  | normal       | normal    |
| R21<br>* 255<br>+ 480 | 5,5 x 3,8        | lesão vegetante<br>1,0 x 1,6 | normal       | normal    |
| R22<br>* 210<br>+ 390 | 4,8 x 4,4        | lesão nodular<br>0,2 x 0,4   | normal       | normal    |
| R23<br>* 235<br>+ 430 | 5,1 x 5,5        | normal                       | normal       | normal    |
| R24<br>* 248<br>+ 440 | 3,5 x 3,8        | espessamento                 | normal       | normal    |
| R25<br>* 250<br>+ 448 | 4,4 X 5,5        | normal                       | normal       | normal    |

## Lesões Macroscópicas

### Grupo III – Refluxo através do piloro (RDG-P)

**Tabela 17** - Descrição das lesões macroscópicas encontradas em cada animal do grupo III(RDG-P)

\* peso do animal antes da laparotomia

+ peso do animal no sacrifício

| ANIMAL<br>Peso (gr)  | ESTÔMAGO<br>(cm)               | ANASTOMOSE   | PRÉ-PILÓRICA            | ESCAMOSA  |
|----------------------|--------------------------------|--|-------------------------|-----------|
| R1<br>*303<br>+ 474  | 4,3 x 4,0<br>alça dilatada     | lesão ulcerada,<br>bordos elevados<br>1,0 x 0,8x 0,3 | > pregas                | > pregas  |
| R2<br>* 339<br>+378  | 4,2x 4,0x 3,0<br>Alça dilatada | > pregas   | tecido<br>esbranquiçado | espessado |
| R3<br>* 280<br>+448  | 5,0 x 4,8<br>enegrecido        | lesão nodular elevada<br>1,0 x1,7 x 0,4              | normal                  | espessado |
| R4<br>*290<br>+403   | 4,2 x 4,0                      | discreta elevação                                    | discreta elevação       | espessado |
| R5<br>* 265<br>+ 408 | 4,1 x 4,3                      | lesão nodular elevada<br>1,8 x 1,0 x 0,3             | discreta elevação       | espessado |
| R6<br>*270<br>+412   | 4,5 x 4,0                      | elevação na linha<br>de sutura                       | normal                  | normal    |
| R7<br>*290<br>+ 338  | 3,5 x 4,5                      | lesão ulcerada<br>0,7 x0,6 x0,3<br>depressão central | elevação                | espessado |

| ANIMAL    | ESTÔMAGO  | ANASTOMOSE         | PRÉ-PILÓRICA    | ESCAMOSA |
|-----------|-----------|--------------------|-----------------|----------|
| Peso (gr) | (cm)      |                    |                 |          |
| R8        | 4,0 X 3,0 | 3 lesões bordos    | dilatado        | normal   |
| *290      |           | elevados           |                 |          |
| +497      |           | 1,0 x 1,3 x 0,5    |                 |          |
|           |           | 0,3 x 0,5 x 0,5    |                 |          |
|           |           | 0,2 x 0,6 x 0,2    |                 |          |
| R9        | 3,0 x 3,5 | lesão elevada      | dilatado        | normal   |
| *299      |           | 0,5 x 0,5 x 0,4    |                 |          |
| + 489     |           |                    |                 |          |
| R10       | 3,0 x 3,5 | lesão nodular      | dilatado        | normal   |
| *280      |           | 0,5 x 0,5 x 0,5    |                 |          |
| +470      |           |                    |                 |          |
| R11       | 3,0 x 7,0 | 2 lesões ulceradas | dilatado        | normal   |
| * 285     |           | 1,3 x 0,5 x 0,5    |                 |          |
| + 478     |           | 0,5 x 0,7 x 0,4    |                 |          |
| R12       | 5,0 x 5,5 | lesão nodular      | lesão 1,5 x 1,0 | normal   |
| *280      |           | 2,0 x 1,5 x 0,5    |                 |          |
| +440      |           |                    |                 |          |
| R13       | 5,5 x 5,0 | lesão ulcerada     | normal          | normal   |
| *290      |           | 0,8 x 0,5 x 0,5    |                 |          |
| +430      |           |                    |                 |          |
| R14       | 5,5 x 5,0 | lesão polipóide    | normal          | normal   |
| *300      |           | 1,5 x 1,0          |                 |          |
| + 460     |           |                    |                 |          |
| R15       | 7,0 x 4,0 | lesão polipóide    | normal          | normal   |
| *276      |           | 1,9 x 1,5 x 0,9    |                 |          |
| + 390     |           |                    |                 |          |
| R16       | 3,3 x 4,0 | lesão polipóide    | lesão vegetante | normal   |
| *288      |           | 1,0 x 0,5 x 0,5    | 1,0 x 0,5       |          |
| +420      |           |                    |                 |          |

| ANIMAL    | ESTÔMAGO  | ANASTOMOSE          | PRÉ-PILÓRICA    | ESCAMOSA  |
|-----------|-----------|---------------------|-----------------|-----------|
| Peso (gr) | (cm)      |                     |                 |           |
| R17       | 4,3 x 4,0 | lesão polipóide     | normal          | normal    |
| *299      |           | 1,0 x 0,5           |                 |           |
| +420      |           |                     |                 |           |
| R18       | 4,3 x 3,3 | lesão polipóide     | lesão ulcerada  | normal    |
| *260      |           | 1,3 x 0,8 x 0,5     | 0,5 x 0,3       |           |
| + 420     |           |                     |                 |           |
| R19       | 4,0 x 4,0 | lesão polipóide     | normal          | normal    |
| *290      |           | 0,5 x 0,5 x 1,0     |                 |           |
| +395      |           |                     |                 |           |
| R20       | 3,3 x 4,3 | 3 lesões polipóides | lesão vegetante | espessado |
| *290      |           | 0,3 x 0,2 x 0,3     | 0,6 x 0,2       |           |
| +400      |           |                     |                 |           |
| R21       | 5,0 x 3,3 | lesão polipóide     | espessado       | espessado |
| *295      |           | 0,7 x 0,7 x 0,6     |                 |           |
| +420      |           |                     |                 |           |
| R22       | 4,0 x 4,3 | lesão polipóide     | normal          | normal    |
| *275      |           | 1,0 x 0,8 x 0,5     |                 |           |
| +415      |           |                     |                 |           |
| R23       | 4,5 x 4,0 | lesão Polipóide     | normal          | normal    |
| *280      |           | 1,0 X 0,5           |                 |           |
| + 420     |           |                     |                 |           |
| R24       | 6,0 x 6,0 | lesão vegetante     | normal          | normal    |
| *290      | alça cega | 1,0 x 0,5           |                 |           |
| +415      | abscesso  |                     |                 |           |
| R25       | 6,0 x 4,0 | normal              | normal          | normal    |
| *288      |           |                     |                 |           |
| +420      |           |                     |                 |           |

## Lesões Microscópicas encontradas no grupo II (DRG)

**Tabela 18** - Frequência de lesões microscópicas em cada animal do grupo II (RDG).

PRÉ-PIL (mucosa pré-pilórica) ANAST (mucosa da anastomose)

ESCAM (mucosa escamosa) H A (Hiperplasia Adenomatosa)

AC (Adenocarcinoma) HE (Hiperplasia Escamosa)

S (Sim) N (Não)

| ANIMAL | GRUPO | PRE-PIL HA | ANAST HA | ANAST AC | ESCAM HE |
|--------|-------|------------|----------|----------|----------|
| 1      | II    | N          | N        | N        | N        |
| 2      | II    | N          | N        | N        | N        |
| 3      | II    | N          | N        | N        | N        |
| 4      | II    | N          | N        | N        | N        |
| 5      | II    | N          | N        | N        | N        |
| 6      | II    | N          | S        | N        | N        |
| 7      | II    | N          | S        | N        | N        |
| 8      | II    | N          | S        | N        | N        |
| 9      | II    | N          | N        | N        | N        |
| 10     | II    | N          | N        | N        | N        |
| 11     | II    | N          | N        | N        | N        |
| 12     | II    | N          | N        | N        | N        |
| 13     | II    | N          | N        | N        | N        |
| 14     | II    | N          | N        | N        | N        |
| 15     | II    | N          | S        | N        | N        |
| 16     | II    | N          | S        | N        | N        |
| 17     | II    | N          | S        | N        | N        |
| 18     | II    | N          | S        | N        | N        |
| 19     | II    | N          | S        | N        | N        |
| 20     | II    | N          | N        | N        | N        |
| 21     | II    | N          | S        | N        | S        |
| 22     | II    | N          | N        | N        | S        |
| 23     | II    | N          | S        | N        | S        |
| 24     | II    | N          | N        | N        | N        |
| 25     | II    | N          | N        | N        | N        |

### Lesões Microscópicas encontradas no grupo III(RDG-P)

**Tabela 19** - Frequência de lesões microscópicas em cada animal do grupo III (RDG-P).

PRÉ-PIL (mucosa pré-pilórica) ANAST (mucosa da anastomose)

ESCAM (mucosa escamosa) H A (Hiperplasia Adenomatosa)

AC (Adenocarcinoma) HE (Hiperplasia Escamosa)

S (Sim) N (Não)

| ANIMAL | GRUPO | PRE-PIL HA | ANAST HA | ANAST AC | ESCAM HE |
|--------|-------|------------|----------|----------|----------|
| 1      | III   | N          | S        | N        | N        |
| 2      | III   | N          | S        | N        | N        |
| 3      | III   | N          | S        | N        | N        |
| 4      | III   | N          | N        | N        | N        |
| 5      | III   | N          | S        | N        | N        |
| 6      | III   | N          | S        | N        | N        |
| 7      | III   | S          | S        | N        | N        |
| 8      | III   | S          | S        | N        | N        |
| 9      | III   | S          | S        | N        | N        |
| 10     | III   | S          | S        | N        | N        |
| 11     | III   | N          | S        | N        | N        |
| 12     | III   | S          | N        | S        | S        |
| 13     | III   | N          | S        | N        | N        |
| 14     | III   | N          | N        | S        | S        |
| 15     | III   | N          | S        | N        | N        |
| 16     | III   | N          | N        | S        | N        |
| 17     | III   | N          | N        | N        | N        |
| 18     | III   | S          | S        | N        | S        |
| 19     | III   | S          | S        | N        | S        |
| 20     | III   | S          | S        | N        | S        |
| 21     | III   | S          | S        | N        | N        |
| 22     | III   | S          | S        | N        | N        |
| 23     | III   | N          | S        | N        | N        |
| 24     | III   | N          | N        | N        | N        |
| 25     | III   | N          | N        | N        | N        |

## Tabelas de Frequência

- Para fazer as comparações foi utilizado, para medidas independentes, o teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher (20% das caselas com frequências esperadas <5).
- Foi utilizado um nível de significância de 5% (p-valor < 0.05).

**Tabela 20 - Tabela de frequência - Tipo de lesão por grupo, para cada local**

| Pré-Pilórica HA por Grupo              |        |        |        | Anastomose HA por Grupo                |       |       |        |
|--|--------|--------|--------|--|-------|-------|--------|
| Frequency,                             |        |        |        | Frequency,                             |       |       |        |
| Percent ,                              |        |        |        | Percent ,                              |       |       |        |
| Row Pct ,                              |        |        |        | Row Pct ,                              |       |       |        |
| Col Pct ,                              | II     | III    | Total  | Col Pct ,                              | II    | III   | Total  |
| N                                      | 25     | 15     | 40     | N                                      | 15    | 7     | 22     |
|  | 50.00  | 30.00  | 80.00  |  | 30.00 | 14.00 | 44.00  |
|  | 62.50  | 37.50  |        |  | 68.18 | 31.82 |        |
|  | 100.00 | 60.00  |        |  | 60.00 | 28.00 |        |
| S                                      | 0      | 10     | 10     | S                                      | 10    | 18    | 28     |
|  | 0.00   | 20.00  | 20.00  |  | 20.00 | 36.00 | 56.00  |
|  | 0.00   | 100.00 |        |  | 35.71 | 64.29 |        |
|  | 0.00   | 40.00  |        |  | 40.00 | 72.00 |        |
| Total                                  | 25     | 25     | 50     | Total                                  | 25    | 25    | 50     |
|  | 50.00  | 50.00  | 100.00 |  | 50.00 | 50.00 | 100.00 |
| Statistic Chi-Square: P-valor = 0.0004 |        |        |        | Statistic Chi-Square: P-valor = 0.0227 |       |       |        |

| Anastomose AC por Grupo               |        |        |        | Escamosa HE por Grupo                 |       |       |        |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|---------------------------------------|-------|-------|--------|
| Frequency,                            |        |        |        | Frequency,                            |       |       |        |
| Percent ,                             |        |        |        | Percent ,                             |       |       |        |
| Row Pct ,                             |        |        |        | Row Pct ,                             |       |       |        |
| Col Pct ,                             | II     | III    | Total  | Col Pct ,                             | II    | III   | Total  |
| N                                     | 25     | 22     | 47     | N                                     | 22    | 20    | 42     |
|                                       | 50.00  | 44.00  | 94.00  |                                       | 44.00 | 40.00 | 84.00  |
|                                       | 53.19  | 46.81  |        |                                       | 52.38 | 47.62 |        |
|                                       | 100.00 | 88.00  |        |                                       | 88.00 | 80.00 |        |
| S                                     | 0      | 3      | 3      | S                                     | 3     | 5     | 8      |
|                                       | 0.00   | 6.00   | 6.00   |                                       | 6.00  | 10.00 | 16.00  |
|                                       | 0.00   | 100.00 |        |                                       | 37.50 | 62.50 |        |
|                                       | 0.00   | 12.00  |        |                                       | 12.00 | 20.00 |        |
| Total                                 | 25     | 25     | 50     | Total                                 | 25    | 25    | 50     |
|                                       | 50.00  | 50.00  | 100.00 |                                       | 50.00 | 50.00 | 100.00 |
| Fisher's Exact Test: P-Valor = 0.2347 |        |        |        | Fisher's Exact Test: P-Valor = 0.7019 |       |       |        |